Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Een objectieve methode ter bepaling van het verloop der bloedstolling

https://hdl.handle.net/1874/281460

EEN OBJECTIEVE METHODE TER BEPALING VAN HET VERLOOP DER BLOEDSTOLLING

R. J. WOLVIUS

EEN OBJECTIEVE METHODE TER BEPALING VAN HET VERLOOP DER BLOEDSTOLLING

RIJKSUNIVERSITEIT UTRECHT
1618 8645

a. gu 192

EEN OBJECTIEVE METHODE TER BEPALING VAN HET VERLOOP DER BLOEDSTOLLING

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS Mr. J. C. NABER, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER RECHTSGELEERDHEID, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG 24 APRIL 1923, DES N.M. 3 UUR

DOOR

REINDER JAKOB WOLVIUS,
(ARTS TE UTRECHT)

GEBOREN TE ARUM (Fr.)

BIBLIOTHEEK
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT

1923
DRUKKERIJ F. W. HAJER
UTRECHT

UNIVERSITEITS BIBLIOTHEEK
UTRECHT

AAN MIJN VADER.
AAN MIJNE VROUW.

Gaarne volg ik de goede gewoonte op deze plaats mijn dank te brengen aan U, Hoogleeraren en Oud-Lector der Medische en Philosophische Faculteit der Groningsche Universiteit.

In het bijzonder geldt dit U, hooggeleerde Hijmans van den Bergh, hooggeachte Promotor. Met een gevoel van groote dankbaarheid denk ik terug aan de jaren van mijn assistentschap. Ik heb het een voorrecht geacht U in 1918 naar Utrecht te mogen volgen; het zijn vooral deze laatste jaren, die bijzonder in mijn herinnering zullen blijven. Veel heb ik van U ontvangen, ik heb door Uw optreden leeren inzien de groote verantwoordelijkheid, die de medicus draagt bij elken zieke, die zijn raad komt vragen, een verantwoordelijkheid, die moet nopen tot nauwgezet onderzoek en zorgvuldige behandeling, waarbij vooral ook de mensch in zijn psychische en sociale verhoudingen dient beschouwd te worden.

Het voorrecht meerdere jaren van Uw groote kennis en ervaring te hebben kunnen leeren, is niet genoeg op prijs te stellen en naar waarde te schatten. Daarbij hebt Gij steeds Uw omgeving tot wetenschappelijk denken en werken aangezet, waarvan ook dit proefschrift een gevolg is. Ik breng U mijn grooten dank voor de aangename en vriendschappelijke wijze, waarop Gij mij steeds geleid hebt.

Hooggeleerde Ornstein, Zeergeleerde Moll, het grootste deel van mijn onderzoek heb ik in Uw laboratorium mogen verrichten. Steeds weer werd ik getroffen door de groote mate van gastvrijheid en hulpvaardigheid,

die ik daar mocht vinden. Wanneer ik denk aan de beperkte ruimte, waarmee Gij in verband met het groote aantal onderzoekers te kampen hebt, dan stemt mij Uw bereidwilligheid tot groote erkentelijkheid.

Uw steun was voor mij onmisbaar.

Ten zeerste dank ik ook U, Zeergeleerde Burger, voor den tijd en de moeite, die Gij aan mij gegeven hebt. Uw steun bij mijn eerste vernieuwde schreden op het physisch pad heeft mij alleen verder kunnen brengen.

Allen, die mij bij het samenstellen van dit proefschrift behulpzaam zijn geweest, zij hier mijn dank gebracht.

Hooggeleerde Wester, de wijze, waarop Gij het mij mogelijk gemaakt hebt, ook bij het paard mijn waarnemingen te verrichten, heeft mij aan U verplicht.

Ten slotte gedenk ik ook op deze plaats den tijd, dien ik als internist in het Militair Hospitaal te Utrecht heb mogen werkzaam zijn. Dat deze tijd voor mij een aangename en leerzame was, dank ik aan de vriendschappelijke en nauwe samenwerking, die ik met U allen, die aan het Hospitaal verbonden waart, gehad heb.

INHOUD

Pag.

INLEIDING 1

HOOFDSTUK I
De Extinctiemeter volgens Moll 7

HOOFDSTUK II
Voorloopig onderzoek 11

HOOFDSTUK III
Waarnemingsmethode. 25

HOOFDSTUK IV
Contrôlewaarnemingen 44

HOOFDSTUK V
Waarnemingen, verricht bij constante temperatuur. . . 51

HOOFDSTUK VI
Opmerkingen. 58

INLEIDING.

De gebruikelijke methoden om den stollingstijd van bloed te bepalen, berusten op het vaststellen van den tijd, die verloopt tusschen het oogenblik, waarop het bloed aan den betrokken persoon wordt ontnomen en het tijdstip, waarop de algeheele verstijving juist is ingetreden.

Veelal bepaalt men ook den reactietijd van het bloed, waaronder verstaan wordt de tijd verloopende vanaf het oogenblik, dat het bloed ontnomen is tot het tijdstip, waarop de stolling begint.

Het aantal methoden, dat in den loop der jaren is aangegeven, is groot.

In 1878 beschreef Vierordt [1]) een methode, waarbij hij een druppel bloed, uit een vingertop verkregen, bracht in een zuivere glascapillair met een middellijn van 1 millimeter en een lengte van 5 centimeters; door de capillair liep een goed gereinigde, witte paardenhaar, waaraan van tijd tot tijd getrokken werd. Zoolang het bloed vloeibaar was, bleef de haar wit. Was de stolling begonnen, dan kwam de haar rood gekleurd te voorschijn; was de stolling totaal geworden, dan trad de haar weer wit uit het buisje. Op die wijze vond hij een normale stollingstijd van ongeveer 9 minuten.

Wright [2]) gaf in 1893 en '94 een andere methode aan.

---

[1]) C. H. Vierordt. Archiv. f. Heilkunde, 1878.
[2]) A. E. Wright. Britisch Med. Journal, 1893; 1894.

Hij zoog het bloed op in een serie van capillaire buisjes, met een middellijn van 0,025 c.M. en een lengte van 10 c.M. Zoodra een buisje gevuld was, werd het op een constante temperatuur van 18,5° C. gehouden. Na 1 à 2 minuten werd het eerste buisje op vloeipapier uitgeblazen. Was het bloed nog vloeibaar, dan werd even gewacht, alvorens een volgend buisje te nemen; was het buisje reeds verstopt, dan werd een volgend buisje uitgeblazen, dat zich korter onder constante temperatuur bevond.

Op die wijze werd het oogenblik genoteerd, waarop het bloed vloeibaar was en een weinig fibrine bevatte en tevens het oogenblik, waarop totale stolling was opgetreden; de tijd noodig tot het begin en tot het einde der stolling was dan bepaald. Hij vond als normale stollingstijd $2^1/_2$—5 minuten.

Brodie en Russell [1]) (1897) namen een druppel bloed microscopisch waar. Zoolang het bloed vloeibaar was, zagen zij de roode bloedlichaampjes onder invloed van een zwakken luchtstroom bewegen. Hield de beweging op, dan was de stolling opgetreden.

Bürker [2]) (1904 en 1907) bracht het bloed, verkregen uit een vingertop, in een hol geslepen objectglas; hij droeg zorg voor een constante temperatuur. In de holte werd het bloed verdund met water, waardoor volgens Bürker een scherper grens voor het stollingsbegin ontstaat. Elke halve minuut ging hij met een dunne glazen staaf door het bloed, telkens op andere wijze om geen ophooping van bloedcellen te veroorzaken; hij noteerde dan het tijdstip, waarop hij voor het eerst fibrinedraden aan de staaf opmerkte. Hij mat dus den tijd vanaf het oogenblik, dat het bloed ontnomen werd tot het oogenblik, waarop de stolling begon. Bij verschillende temperaturen vond hij verschillende waarden.

Door inplaats van water andere vloeistoffen en oplos-

---

[1]) Brodie en Russell. Journal of Physiology, Mei 1897.

[2]) K. Bürker. Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie der Menschen und der Tiere. Bd. 102 (1904). Bd. 104 (1907).

singen met het bloed te mengen, kon hij den invloed daarvan op de bloedstolling nagaan.

Kottman [1]) heeft een instrument geconstrueerd, waardoor hij de viscositeit van het bloed op elk oogenblik kon aflezen. Daar de viscositeit parallel met de stolling van het bloed gaat, kan de graad van stolling op deze wijze op elk oogenblik in getallen worden uitgedrukt.

Morawitz en Bierich [2]) brachten 5 ccM. bloed, door venapunctie uit een armader ontnomen, in zorgvuldig gereinigde droge horlogeglazen, die zich in een, van een thermometer voorziene, vochtige ruimte bevonden. Als eindpunt der stolling werd het oogenblik genoteerd, waarop het bloedoppervlak, bij verandering van stand, niet meer bewoog.

Het ligt niet in mijn bedoeling een volledige beschrijving te geven van de verschillende wijzen, waarop men getracht heeft den stollingstijd van bloed te bepalen, het beste toch zal men deze kunnen vinden in de oorspronkelijke artikelen. Evenmin zal ik op elk van haar afzonderlijk critiek oefenen, daar persoonlijke ervaring mij ontbreekt.

De genoemde methoden zouden nog te vermeerderen zijn; eenige wilde ik noemen om slechts een indruk te geven van de wijze, waarop men den bloedstollingstijd bepaald heeft.

Ikzelf gebruikte aanvankelijk de methode, zooals deze door R. Stephan [3]), Nonnenbruch [4]) en Szyska, Wöhlisch [5]) e. a. in navolging van Fonio [6]) werd toegepast.

Een kort te voren uitgekookte droge Luersche spuit wordt gebruikt, om bloed uit een cubitaalvena te ontnemen. Twintig druppels van dit bloed worden gebracht in horlogeglazen

---

[1]) Kottmann, Der Koaguloviskosimeter. Zeitschrift f. klin. Med. Bd. 109 (1910).

[2]) Morawitz en Bierich. Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie. Bd. 56 (1907).

[3]) R. Stephan. Deutsche Med. Wochenschrift 1920, no. 25.

[4]) Nonnenbruch u. Szyska. Müch. Med. Wochenschrift 1920, no. 37; 1921, no. 30. Deutsches Archiv. f. Klin. Med. 1920, Bd. 114.

[5]) Wöhlisch. Münch. Med. Wochenschrift, 25 Febr. 1921. 29 Juli 1921.

[6]) Fonio. Mitteilungen aus der Grenzgebieten der Med. und Chirurgie, Bd. 27, 1914.

van precies dezelfde grootte en aard en te voren met alcohol goed gereinigd. Alleen die horlogeglazen worden gebruikt, waarin twintig druppels van hetzelfde bloed binnen denzelfden tijd stollen. Het horlogeglas wordt geplaatst in een als vochtige kamer gebruikte Petri-schaal, die direct na het begin der proef wordt afgedekt. Door voorzichtig de Petrischaal in hellenden stand te brengen, wordt het oogenblik genoteerd, waarop geen verandering van het bloedoppervlak valt waar te nemen en dit als eindpunt der stolling aangenomen.

Slechts dat bloed wordt gebruikt, dat bij het eerste insteken van de naald bij de venapunctie, als het ware vanzelf, in de spuit stroomt.

Wöhlisch heeft bij deze methode nog een grootere nauwkeurigheid trachten te bereiken door gebruik te maken van horlogeglazen, waarvan het inwendige oppervlak een exact boloppervlak van nauwkeurig bekende kromming is; op deze wijze komt de voor de bepaling nauwkeurig afgemeten hoeveelheid bloed steeds met een glasoppervlakte van dezelfde grootte in aanraking, zoodat de invloed van het aanrakingsoppervlak op de snelheid van het stollingsproces bij elke waarneming dezelfde is.

In de tweede plaats draagt Wöhlisch zorg voor een constante temperatuur, daartoe plaatst hij het schaaltje met bloed in een stollingsthermostaat, waarin door een handvat, aan den buitenkant aangebracht, het schaaltje in hellenden stand kan worden gebracht en door een venstertje het bloedoppervlak beschouwd kan worden.

Op deze wijze zegt Wöhlisch zeer betrouwbare resultaten te verkrijgen, hij spreekt zelfs van „absolute Gerinnungszeiten."

Fonio [1]) zelf echter zegt over de volgens zijn methode bepaalde stollingstijd: „Der Begriff ist natürlich willkürlich gewählt, indem ja nachher das Koagulum immer noch fester wurde. . . . ."

---

[1]) Fonio. Mitteilungen aus den Grenzgebieten der Medizin und Chirurgie. Bd. 27, Seite 644.

Ikzelf aarzelde steeds het tijdstip der algeheele verstijving vast te stellen; op een bepaald oogenblik twijfelende of de stolling al dan niet als voltooid moest worden beschouwd.

Hayem [1]) zegt dienaangaande: „On sait en effet, que la solidification du sang ne se fait pas brusquement, c' est à dire d'un seul coup, à un moment précis. Le phénomène, évolu d' une manière progressive à tel point, que pendant une période relativement assez lonque, on reste dans l'hésitation en se demandant, si la prise en gelée est effectuée ou n' est encore qu' imminente."

Hayem staat in deze opvatting niet alleen; A. Rollet [2]) uit zich als volgt: „Die Gerinnung des Blutes vollzieht sich nicht mit einem Schlage, sie beginnt unscheinbar und hat bis zu dem Momente, wo keine weitere Ausscheidung von Fibrin aus dem Blute mehr eintritt, einen bestimmten zeitlichen Verlauf. Dieser ist in seinen einzelnen Phasen nur schwer zu verfolgen, zu charakterisieren und zu begrenzen."

Ook Marcel Bloch [3]) sluit zich hierbij aan: „En effet, si l' on regarde attentivement certains tubes de sang dès que la coagulation est effectuée (au moment ou d' après la définition des classiques on peut retourner complètement le tube, sans qu' il s' écoule rien) on s' aperçoit que sous un mince coagulum de surface, la masse interne est restée liquide et qu' il s'y effectue une sédimentation partielle ou même complète. Mais elle passe inaperçue, incluse qu' elle est dans un mince cylindre cruorique formé probablement sous l' influence du contact de la paroi de verre, si l' on pique à ce moment la croutelle de surface, la plasma liquide, puis les globules s' écoulent", en even verder zegt hij: „Encore une objection contre la valeur de temps de coagulation in vitro comme mesure de la coagulabilité: ici on croit la caogulation achevée, alors que la masse sanguine est encore liquide."

---

[1]) Hayem. Du Sang, 1889, Pag. 325.

[2]) A. Rollet. Hermann's Handbuch, Bd. 4, Th. 1, S. 103.

[3]) Marcel Bloch. La coagulabilité sanguine. Mesure clinique. Thése de Paris, 1914.

Met deze uitspraken kan ik mij vereenigen. Het groote bezwaar, dat de methode aankleeft, is daarin gelegen, dat men den graad van verstijving door subjectieve waarneming moet beoordeelen, en ik heb daarom gezocht naar een of ander verschijnsel, dat met de verstijving gelijken tred houdt en voor objectieve meting toegankelijk is.

Bij beschouwing van het bloed op een horlogeglas is het opvallend, dat dit bloed na de stolling, in zijn physische hoedanigheden, groote veranderingen ondergaan heeft; niet alleen is het van consistentie veranderd, maar ook heeft het een andere kleur gekregen en is er vocht uitgescheiden. Ik heb daarom gezocht naar eenig physisch verschijnsel, waarvan de meting inzicht in het stollingsverloop zou kunnen geven.

Volgens de theorieën van Nolf [1]) en vooral ook sedert de proefnemingen van Hekma [2]) huldigt [3]) men thans de opvatting, dat het stollingsproces van bloed is een colloidale uitvlokking van fibrine. Uitgaande van deze veronderstelling heb ik er naar gezocht, of met dit eventueele colloidale uitvlokkingsproces van fibrine ook een troebeling gepaard gaat, zooals bekend is, dat geschiedt bij de uitvlokking van andere colloïden en dan in de tweede plaats of deze eventueele troebeling voldoende scherp meetbaar is om gebruikt te kunnen worden.

Voor de meting van troebeling gebruikte ik een nieuw apparaat, den extinctiemeter volgens Dr. W. J. H. Moll, die het mogelijk maakt een troebeling van oogenblik tot oogenblik te meten.

Het principe van dit apparaat moge in het kort beschreven worden.

---

[1]) Nolf. Ergebnisse der Inneren Medizin, Bd. 10 (1913). Eine neue Theorie der Blutgerinnung.

[2]) E. Hekma. Bioch. Zeitschrift, Bd. 62, 63, 64, 65, 73, 74. Internat. Zeitschr. für phys. chem. Biologie, 2, 279, 1915.

[3]) H. Bechhold. Die Kolloide in Biologie und Chemie.

HOOFDSTUK I.

De Extinctiemeter volgens Moll[1]).

Een lichtbron, een half Wattlampje van 25 N. K., door twee Accumulatoren gevoed, is vast opgesteld tusschen twee thermozuilen volgens Moll, I en II.

Tusschen het lampje en de thermozuil I bevindt zich een cuvet met de te onderzoeken vloeistof, tusschen het lampje en de thermozuil II is een cuvet met water geplaatst. Het licht, dat de thermozuilen treft, is dus eenerzijds verzwakt door de te onderzoeken vloeistof, anderzijds door water.

De thermozuilen zijn zeer snel en gevoelig, en vervaardigd uit zeer dunne reepjes metaal, die met een kleine hoeveelheid soldeer samenhangen.

De straling van het lampje wordt geheel geabsorbeerd door de thermozuil en geeft daardoor een temperatuursverhooging, deze is evenredig met de opvallende stralingsenergie. Door de temperatuursverhooging ontstaat een electromotorische kracht, die weer evenredig is met die temperatuursverhooging.

De beide thermozuilen zijn tegen elkaar in, geschakeld

---

[1]) Dr. W. J. H. Moll. Een Extinctiemeter. Koninklijke Academie van Wetenschappen. Wis- en Natuurkunde. Afd. 27, Maart 1920. Deel XXVIII.

aan een spiegelgalvanometer volgens Moll. Bovendien is nog een weerstandsbank, een zgn. compensatieschakelaar ingeschakeld.

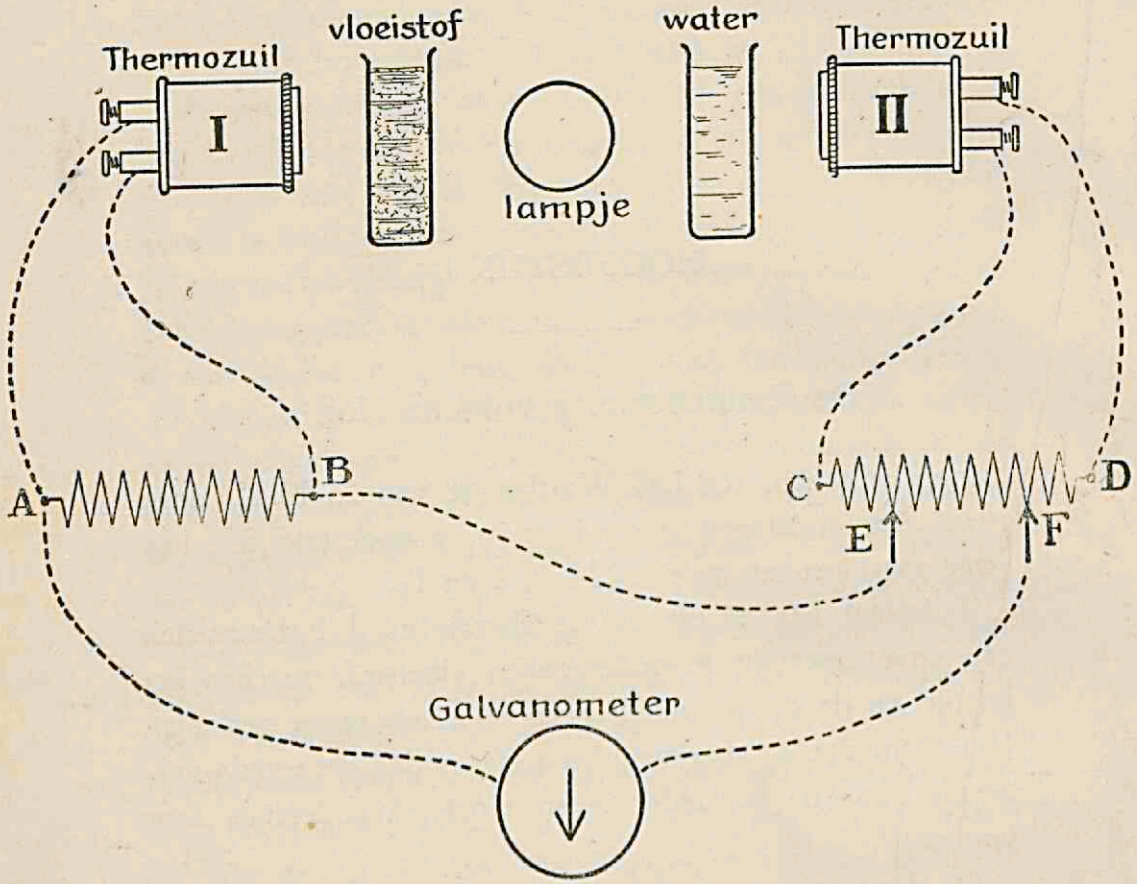


FIG. 1.

Het licht, dat een termozuil treft, wekt daarin dus een thermostroom op. Door een der thermozuilen te verplaatsen of wel door het lampje te verschuiven, kan men gedaan krijgen, dat het in ongelijke mate verzwakte licht met gelijke sterkte beide thermozuilen treft. Beide thermokrachten zijn dan gelijk en wanneer zij geleid worden door gelijke weerstanden, zal de galvanometer een stroom nul ontvangen; het door den spiegel gereflecteerde beeld neemt op een verdeelde schaal den nulstand in.

Het apparaat is dan „gejusteerd".

De geringste verandering in de troebeling van de betrokken vloeistof verstoort het evenwicht; door een toename van troebeling wordt het licht, dat de thermozuil I treft, meer verzwakt, waardoor ook de thermostroom, opgewekt in deze thermozuil zwakker wordt dan de thermostroom, die door de thermozuil II geleverd wordt; het gevolg is een uitslag van den galvanometer.

Omgekeerd zal door een helderder worden van de vloeistof, die zich bevindt tusschen de lichtbron en de thermozuil I, meer stralingsenergie op deze thermozuil worden geworpen en daardoor een thermostroom van grootere intensiteit worden geleverd. Ook daardoor wordt het evenwicht verstoord en zal een galvanometeruitslag optreden, tegenover gesteld aan die, welke ontstaat bij een toename van troebeling in diezelfde vloeistof.

Het apparaat is zoo snel, dat na een eventueele plotselinge troebeling het lichtbeeld binnen twee secunden tot rust gekomen is.

Met behulp van den compensatieschakelaar is een eventueel opgetreden troebeling procentueel te meten. De werking van dit hulptoestel is in fig. 1 schematisch voorgesteld. Het toestel bevat twee gelijke weerstanden, voorgesteld door A B en C D. A B is een enkelvoudige weerstand van 100 ohm, C D is onderverdeeld in 9 weerstanden van 10 ohm, en 10 van 1 ohm, totaal dus ook 100 ohm. A B en C D worden blijvend parallel aangesloten met beide thermozuilen, terwijl B verbonden is met een verschuifbaar contact E, en A via den galvanometer met een tweede schuifcontact F.

Terwijl in het cuvet voor I zich de te onderzoeken vloeistof bevindt, en in het cuvet voor II water, wordt de compensatieschakelaar op 100 gesteld (waarbij dus E en F resp. met C en D samenvallen), en de extinctiemeter gejusteerd. Door het justeeren heeft men bereikt dat beide thermozuilen gelijke straling ontvangen, d.w.z. gelijke thermokrachten leveren.

Treedt daarna in de vloestof een troebeling op, dan wordt de straling, die thermozuil I treft, verzwakt; het evenwicht wordt verbroken en de galvanometer krijgt een uitslag. Door nu de contacten E en F te verschuiven kan men het evenwicht weer herstellen, d.w.z. het lichtbeeld van den galvanometer weer op den oorspronkelijken stand terug brengen. Uit het schakelschema, zie fig. 1, is duidelijk, dat het verminderen van den weerstand tusschen E en F neerkomt op het aftappen van een deel der door thermozuil II geleverde thermokracht. Onderstel, dat het evenwicht is bereikt, wanneer de weerstand tusschen E en F 75 ohm bedraagt, dan beteekent dit, dat van de thermokracht van II, $^{75}/_{100}$ in de galvanometerketen wordt gevonden. Deze thermokracht maakt nu evenwicht met de thermokracht van I. Dus de troebeling der vloeistof heeft de straling, die I treft, tot op $^{75}/_{100}$ verzwakt. De aflezing van de getallen, op den compensatieschakelaar aangegeven, geeft dus direct de procentueele verzwakking, die het licht door de opgetreden troebeling ondervindt.

De gevoeligheid van den extinctiemeter kan nog aanzienlijk verhoogd worden door, tusschen het lampje en de thermozuilen, dicht bij het lampje, lenzen te plaatsen, waardoor de stralingsenergie van het lampje op de thermozuilen geconcentreerd wordt. Van deze lenzen heb ik geen gebruik gemaakt, omdat voor mijn onderzoek de gevoeligheid van het apparaat zonder lenzen, voldoende was.

HOOFDSTUK II.

Voorloopig onderzoek.

Het bleek al spoedig, dat het onveranderde bloed voor mijn doel ongeschikt was; de absorptie en verstrooiïng van het licht door de roode bloedlichaampjes zijn zoo groot, dat slechts zeer weinig licht wordt doorgelaten en een eventueel optredende troebeling uit den aard der zaak ook slechts weinig invloed meer op de thermozuil kan uitoefenen. Aan dit bezwaar van groote absorptie en verstrooiïng zou men meenen tegemoet te kunnen komen door het bloed in zeer dunne laag tusschen de lichtbron en een thermozuil te plaatsen, door b.v. een bloeddruppel op te vangen tusschen een objectglas en een dekglas. Behalve het feit, dat in de dunnere laag de verhouding van de troebeling van de uitvlokkende fibrine en de absorptie en verstrooiïng van het licht in het versche bloed dezelfde is als in een dikke laag, komt er in de dunne laag bovendien als nadeelige factor bij, dat er naar verhouding een groote invloed is van het aanrakingsoppervlak, waardoor de stolling snel intreedt en zij in haar geheel moeilijk te volgen zou zijn.

Twee bezwaren dienen te worden bestreden, in de eerste plaats de te groote absorptie en verstrooiïng van het licht en in de tweede plaats de groote labiliteit van het bloed, dat verandert, zoodra het buiten de vaten is getreden.

Gunstig zou het zijn eerst een evenwichtstoestand te kunnen vastleggen en daarna de stolling van het bloed te kunnen bewerkstelligen en in zijn verloop te kunnen volgen. Daartoe moet worden uitgegaan van een stabiele vloeistof, waarbij dan tevens door verwijdering der bloedlichaampjes een betere doorlaatbaarheid voor bloed verkregen kan worden. Om dit te bereiken heb ik het bloed opgevangen in een 1 % oplossing van kaliumoxalaat, en 0,85 % natriumcloride in een verhouding van negen deelen bloed op één deel der oplossing. Op deze wijze wordt het calcium door het oxalaat gebonden en de stolling van het bloed tegengegaan. Het verkregen mengsel kan worden gecentrifugeerd, waardoor de cellen neerslaan en een min of meer troebel witgeel plasma kan worden afgepipetteerd. Dit oxalaatplasma is vrij stabiel en stolt niet gedurende meerdere dagen.

Een bepaalde hoeveelheid van dit oxalaatplasma wordt in een klein glazen cuvet gebracht en geplaatst tusschen de lichtbron en de thermozuil I; daarbij wordt zorg gedragen, dat de geheele lichtbundel, die de thermozuil treft, gaat door het oxalaatplasma.

Tusschen de lichtbron en de thermozuil II bevindt zich een glazen cuvet gevuld met water, de hoeveelheid licht, die door dit cuvet met water valt op de thermozuil, is dus voortdurend constant. Ook in het oxalaatplasma vinden geen veranderingen plaats, waardoor ook de thermozuil I steeds een constante hoeveelheid licht van de lichtbron ontvangt. Er bestaat een evenwichtstoestand tusschen beide thermozuilen, die in den galvanometerstand door een volmaakte rust tot uiting komt.

Zooals bekend is, kan het oxalaatplasma opnieuw tot stolling gebracht worden door toevoeging van een overmaat van een calciumzout. Door menging van 3 ccM. oxalaatplasma met 1½ ccM. ½ % $CaCl_2$ treedt spoedig stolling van het plasma in.

Uitgaande van 3 ccM. oxalaatplasma in een cuvet, geplaatst tusschen den lichtbron en de thermozuil I, waarbij de spiegel-

galvanometer zich in volkomen rust bevindt, wordt deze rust onmiddellijk verstoord na toevoeging van $1^1/_2$ ccM. $^1/_2$ % $CaCl_2$, die door middel van een pipet in het cuvet worden gebracht en direct daarna met een klein glazen staafje worden geroerd.

De galvanometer laat een grooten uitslag zien, die aangeeft, dat er een troebeling is ontstaan in het cuvet. Deze uitslag is groot en aanvankelijk snel, na het snelle gedeelte volgt een langzamer zich verplaatsen van het lichtbeeld van den galvanometer op de schaal en zoo wordt geleidelijk weer een volkomen rusttoestand van den galvanometer bereikt. Deze rust houdt eenige minuten aan, bij verschillende personen verschilt deze periode, daarna, bijna onmerkbaar, verplaatst zich weer het lichtbeeld van den galvanometer in dezelfde richting als te voren, in de richting, die aangeeft, dat er opnieuw minder licht wordt geworpen op de thermozuil I, dat er opnieuw een troebeling is ingetreden in het cuvet met het bloedplasma.

Zooals reeds gezegd is, begint deze verplaatsing van het spiegelbeeld van den galvanometer bijna onmerkbaar, om langzamerhand in dezelfde tijdseenheid een grootere afstand af te leggen, welke afstand in de volgende tijdseenheden voortdurend toeneemt, om, na een maximum bereikt te hebben, geleidelijk weer kleiner te worden en ten slotte weer zeer langzaam tot stilstand te komen.

Deze eindstand van rust blijft voortdurend gehandhaafd.

Door het noemen van eenige getallen moge dit verduidelijkt worden.

TIJD	GALVANO-METERSTAND	VERPLAATSING
Tot op het oogenblik van $CaCl_2$ toetoevoeging	0	0
na $^1/_2$ minuut	71,2 m.M.	71,2 m.M.
„ 1 „	73,3	2,1
„ $1^1/_2$ „	73,9	0,6
„ 2 „	74,0	0,1
„ $2^1/_2$ „	74,0	0
„ 3 „	74,2	0,2
„ $3^1/_2$ „	80,0	5,8
„ 4 „	90,5	10,5
„ $4^1/_2$ „	98,5	8,0
„ 5 „	103,8	5,3
„ $5^1/_2$ „	106,5	2,7
„ 6 „	108,2	1,7
„ $6^1/_2$ „	109,1	0,9
„ 7 „	109,8	0,7
„ $7^1/_2$ „	110,0	0,2
„ 8 „	110,2	0,2
„ $8^1/_2$ „	110,7	0,5
„ 9 „	110,8	0,1
„ $9^1/_2$ „	110,9	0,1
„ 10 „	111,0	0,1

Tabel I. Noteeringen van den galvanometerstand tijdens de stolling van een oxalaatplasma.

TIJD	GALVANO-METERSTAND	VERPLAATSING
Tot op het oogenblik van $CaCl_2$ toevoeging	0	0
na $^1/_2$ minuut	122,0 m.M.	122,0
„ 1 „	127,5	5,5
„ $1^1/_2$ „	128,2	0,7
„ 2 „	128,2	0
„ $2^1/_2$ „	128,5	0,3
„ 3 „	128.6	0,1
„ $3^1/_2$ „	128,6	0
„ 4 „	129,1	0,5
„ $4^1/_2$ „	130,2	1,1
„ 5 „	134,2	4,0
„ $5^1/_2$ „	137,2	3,0
„ 6 „	139,8	2,6
„ $6^1/_2$ „	142,0	2,2
„ 7 „	143,5	1,5
„ $7^1/_2$ „	144,8	1,3
„ 8 „	145,5	0,7
„ $8^1/_2$ „	146,0	0,5
„ 9 „	146,4	0,4
„ $9^1/_2$ „	146,8	0,4
„ 10 „	147,0	0,2
„ — „	—	—
„ 11 „	147,1	0,1
„ — „	—	—
„ 12 „	147,4	0,3

Tabel II. Noteeringen van den galvanometerstand tijdens de stolling van een oxalaatplasma.

De, in de laatste kolom van deze beide tabellen genoemde, getallen geven een beeld van de wijze, waarop de twee oogenschijnlijk geheel verschillende troebelingen verloopen, de eerste snel inzettend om met vertraagde snelheid spoedig te eindigen, de tweede troebeling treedt langzaam op met steeds versneld karakter om met een vertraagd tempo weer langzaam te eindigen.

Het duidelijkst wordt dit karakter getoond door de waar-

nemingen uit te zetten op een verticale en horizontale as. Worden de tijdseenheden op de horizontale as aangegeven en de galvanometer-uitslag op de verticale as, dan ontstaan in de beide bovengenoemde waarnemingen de volgende krommen:

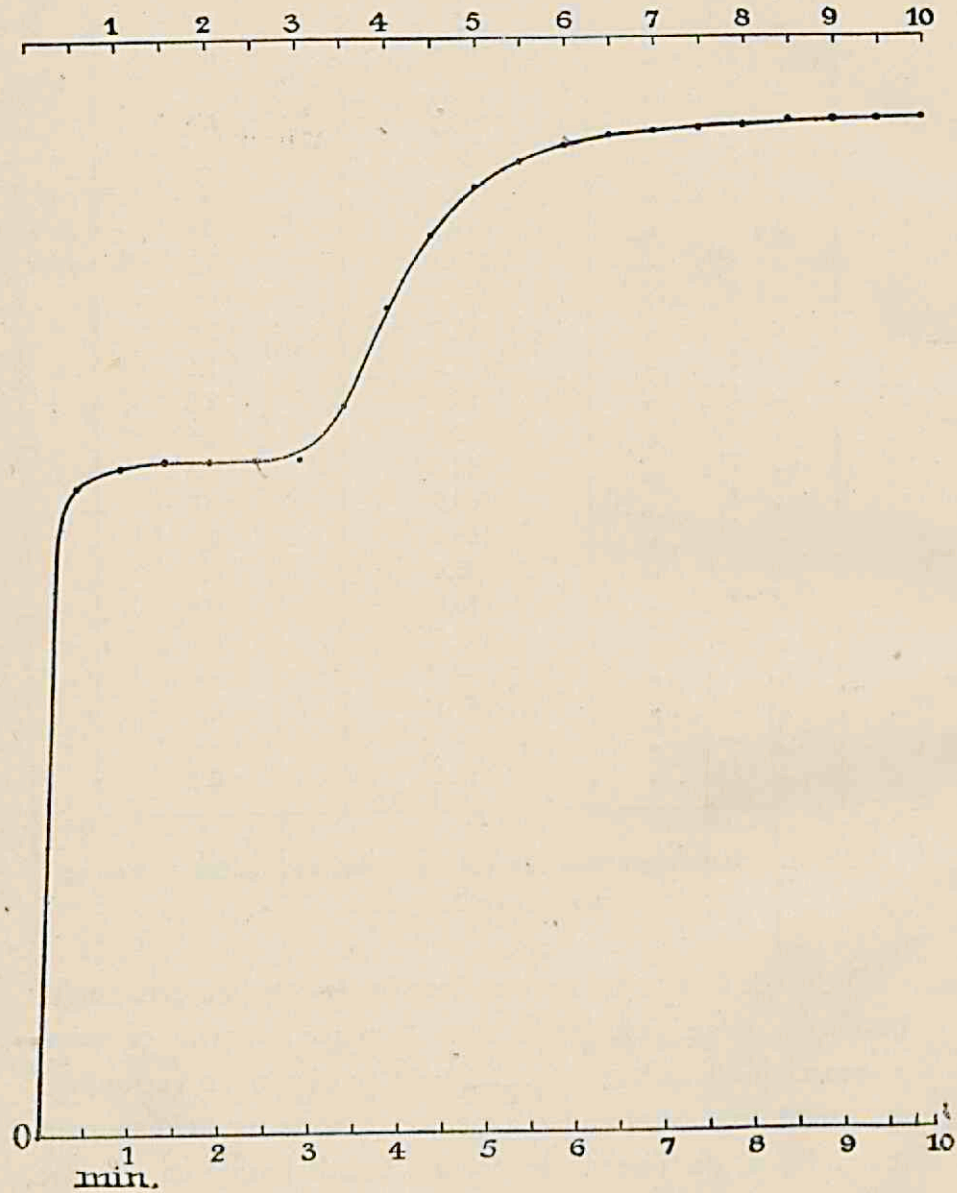


FIG. 2.

Kromme, uitgezet naar de waarneming van tabel I.

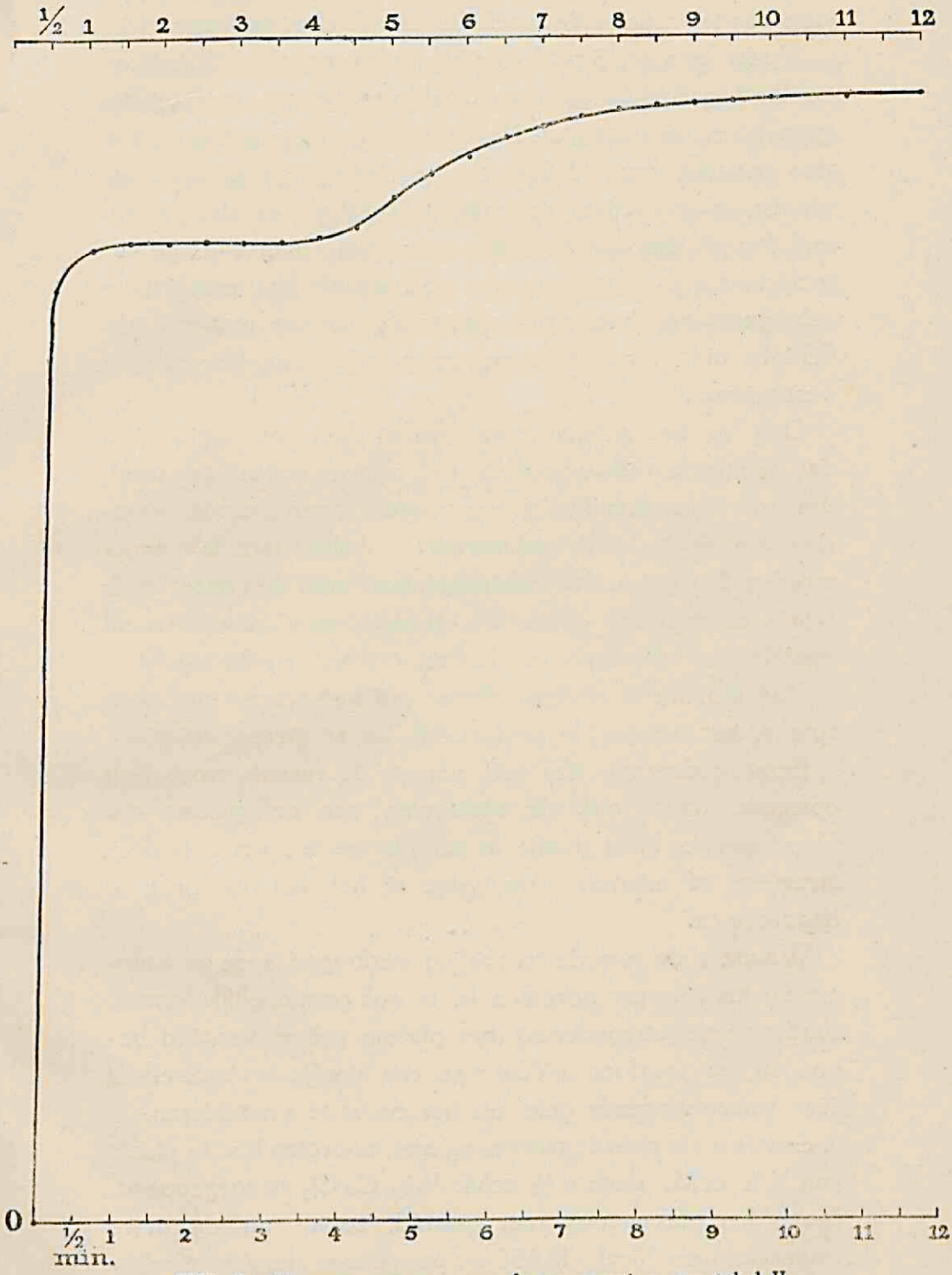


FIG. 3. Kromme, uitgezet naar de waarneming van tabel II.

Ook in het reageerbuisje kunnen met het ongewapende oog zonder moeite de troebelingen worden opgemerkt.

Voegt men aan 3 ccM. van een oplossing van 1 ‰ kaliumoxalaat in 0.85 ‰ natriumchloride in water, waarbij dus geen bloed aanwezig is, 1½ ccM. ½ % calciumchloride toe, dan ontstaat onmiddellijk een troebeling, dit mengsel geplaatst in een cuvet tusschen de lichtbron en de thermozuil I geeft één groote snelle galvanometer-uitslag, die niet grooter wordt, hoe lang men ook wacht; het onoplosbare calciumoxalaat heeft zich gevormd, dat na verloop van eenigen tijd neerslaat en een opheldering van het mengsel veroorzaakt.

Ook in het oxalaatplasma wordt door toevoeging van de calciumchloride-oplossing het calciumoxalaat gevormd, dat ook daar onmiddellijk een troebeling veroorzaakt, waarmee de eerste snelle galvanometer-uitslag verklaard moet worden. Dit gevormde calciumoxalaat slaat niet neer, maar wordt in oplossing gehouden, zooals blijkt uit den ruststand van den galvanometer na den eersten snellen uitslag.

Van stolling is in deze phase van het proces nog geen sprake, het mengsel is gemakkelijk uit te gieten.

Eerst gedurende den tijd, waarin de tweede troebeling optreedt, treedt ook de verstijving van het plasma op. Door met een klein staafje in het plasma te roeren, is deze meerdere of mindere verstijving, zij het dan ook grof, te beoordeelen.

Wanneer de tweede troebeling verloopen is, de galvanometer dus tot rust gekomen is, is, ook onmiddellijk daarna, zonder ééne uitzondering het plasma geheel verstijfd bevonden en is door middel van een staafje het stolsel als ééne samenhangende gelei uit het cuvet te verwijderen.

Ontstaat de tweede troebeling niet, doordien b.v. in plaats van 1½ ccM. slechts ½ ccM. ½% $CaCl_2$ is toegevoegd, dan is het plasma ook niet gestold, zooals uit meerdere waarnemingen bleek. In 150 waarnemingen zijn deze troebelingskrommen zonder één uitzondering van hetzelfde type.

Een tweede reeks voorloopige waarnemingen werd verricht met het citraatplasma van den mensch.

In plaats van het bloed op te vangen in een oplossing van kalium- of natriumoxalaat, kan de onstolbaarheid ook verkregen worden door het, onmiddellijk na het uittreden uit de bloedvaten, te vermengen met een oplossing van natriumcitraat in bepaalde concentratie. Ik gebruikte de concentratie, zooals deze is aangegeven door Marcel Bloch [1]).

2 ccM. bloed worden bij venapunctie opgevangen in 8 ccM. eener oplossing van natriumcitraat en natriumchloride van de volgende samenstelling:

1 deel natriumcitraat,
4 deelen natriumchloride,
400 deelen water.

Dit mengsel stolt niet, na centrifugeeren kan hier een bijna helder plasma worden afgepipetteerd.

3 ccM. van een dergelijk citraatplasma geplaatst in den extinctiemeter en vermengd met ½ ccM. ½ % $CaCl_2$ gaf b.v. de volgende waarneming bij een patient met longtuberculose:

---

[1]) Marcel Bloch. La Coagulabilité Sanguine. Mesure clinique. Thèse de Paris 1914.

TIJD	GALVANO-METERSTAND	VERPLAATSING
Stand tot het moment van $CaCl_2$ toevoeging	0	
na $^1/_2$ minuut	— 0,2 m.M.	— 0,2 m.M.
„ 1 „	— 0,2	0
„ $1^1/_2$ „	— 0,2	0
„ 2 „	— 0,2	0
„ $2^1/_2$ „	— 0,2	0
„ 3 „	— 0,2	0
„ $3^1/_2$ „	— 0,2	0
„ 4 „	— 0,2	0
„ $4^1/_2$ „	— 0,2	0
„ 5 „	— 0,2	0
„ $5^1/_2$ „	— 0,2	0
„ 6 „	— 0,2	0
„ $6^1/_2$ „	— 0,2	0
„ 7 „	— 0,2	0
„ $7^1/_2$ „	— 0,2	0
„ 8 „	— 0,2	0
„ $8^1/_2$ „	+ 0,1	+ 0,3
„ 9 „	+ 2,8	+ 2,7
„ $9^1/_2$ „	4,0	1,2
„ 10 „	5,0	1,0
„ $10^1/_2$ „	6,0	1,0
„ 11 „	6,8	0,8
„ $11^1/_2$ „	7,6	0,8
„ 12 „	8,0	0,4
„ $12^1/_2$ „	8,6	0,6
„ 13 „	9,0	0,4
„ $13^1/_2$ „	9,4	0,4
„ 14 „	9,8	0,4
„ $14^1/_2$ „	10,0	0,2
„ 15 „	10,1	0,1
„ $15^1/_2$ „	10,2	0,1
„ 16 „	10,3	0,1
„ $16^1/_2$ „	10,7	0,4
„ 17 „	10,8	0,1
„ $17^1/_2$ „	10,8	0
„ 18 „	—	—
„ $18^1/_2$ „	—	—
„ 19 „	11	0,2

Tabel III. Noteeringen van den galvanometerstand tijdens de stolling van een citraatplasma van den mensch.

Op een horizontale as de tijdseenheden, op een verticale as de galvanometeruitslag uitzettende, geeft bovenstaande waarneming de volgende kromme.

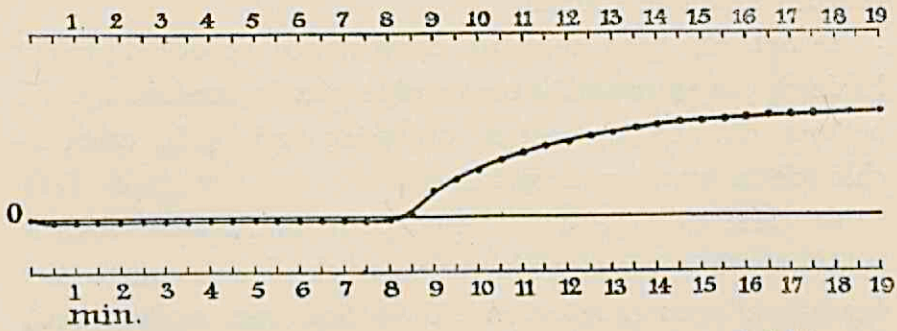


FIG. 4. Kromme uitgezet naar de waarneming van tabel III.

In deze waarneming met het citraatplasma zien we, dat onmiddelijk na de menging met de calciumchloride-oplossing een kleine galvanometeruitslag optreedt in de richting, die aangeeft, dat het mengsel helderder is geworden. Daarna blijft gedurende meerdere minuten de galvanometerstand dezelfde, totdat, in dit geval na 8 minuten, een troebeling optreedt. Ook deze troebeling begint langzaam, verloopt daarna met versneld tempo om met een vertraagd tempo zeer langzaam te eindigen.

In de eerste plaats kan worden opgemerkt, dat de groote snelle galvanometeruitslag, die een aanzienlijke troebeling aanduidt in het oxalaatplasma, direct na de toevoeging van de calciumchloride-oplossing, hier niet aanwezig is; integendeel vinden wij hier een kleine verplaatsing van den galvanometer in de richting, die ons zegt, dat er een geringe opheldering van het mengsel heeft plaats gevonden.

Dit behoeft ons eigenlijk niet te bevreemden, de oorzaak van de troebeling in het oxalaatplasma ligt in de vorming van het onoplosbare calciumoxalaat, deze mogelijkheid is

in het citraatplasma niet aanwezig, hier wordt door het calcium met het natriumcitraat een dubbelverbinding aangegaan, die in oplossing blijft, zooals ook in het reageerbuisje, door menging van twee enkelvoudige waterige oplossingen van calciumchloride en natriumcitraat (zonder bloed), is aan te toonen.

Er ontstaat geen neerslag, daarentegen wordt het plasma helderder, waarschijnlijk tengevolge van de verdunning, die het na de menging met de oplossing van $^1/_2$ % calciumchloride in water ondergaat.

Na deze geringe opheldering zien wij, dat de troebelheid van het bloed gedurende verscheidene minuten niet verandert, gedurende dezen tijd is ook van stolling geen sprake.

Met het optreden der troebeling begint ook hier de verstijving van het bloed, die met die troebeling toeneemt en totaal is geworden, wanneer de troebeling haar maximum bereikt heeft. Met een staafje kan men zich van de verschillende phasen van het stollingsproces in verband met de troebeling op de hoogte stellen.

In twaalf waarnemingen bij den mensch werden bij stolling van het citraatplasma steeds krommen verkregen van hetzelfde type.

Verdere orienteeringswaarnemingen hebben wij nog met paardenbloed verricht. Zoowel met oxalaat- als citraatplasma.

225 ccM. bloed, uit de vena jugularis van het paard, werden opgevangen in 25 ccM. 1 % kaliumoxalaat in 0.85 % natriumchloride-oplossing in water. Het bloed stolt dan niet gedurende meerdere dagen.

Dit oxalaatplasma werd $^1/_2$ uur gecentrifugeerd, waarna een geel, min of meer troebel, plasma kon worden afgepipetteerd. 2 ccM. van dit plasma, gemengd met 10 ccM. $^1/_2$ % $CaCl_2$, waargenomen met den extinctiemeter, geeft een kromme, geheel analoog aan die, bij stolling van het oxalaat-

plasma verkregen, zooals blijkt uit onderstaande figuur; alleen verloopt de stolling bij het paard veel langzamer.

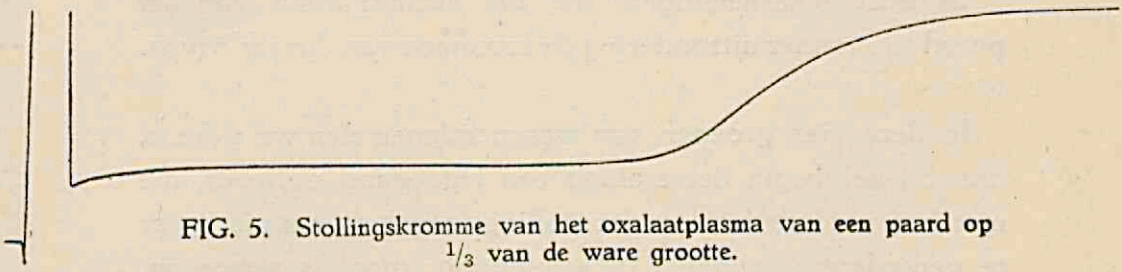


FIG. 5. Stollingskromme van het oxalaatplasma van een paard op $^1/_3$ van de ware grootte.

Ook hier eerst een snelverloopende troebeling tengevolge van de vorming van het onoplosbare calciumoxalaat, waarna gedurende ongeveer twintig minuten geen verandering in de doorlaatbaarheid voor licht van het plasma optreedt en daarna de troebeling, zooals ook bij het oxalaatplasma van den mensch beschreven is. Met het begin van deze troebeling begint de verstijving van het bloed, die met de troebeling toeneemt; wanneer het plasma geheel verstijfd is, heeft ook de troebeling haar maximum bereikt, is ook hier weer een onbewegelijke galvanometerstand, die voortdurend blijft bestaan.

Een achttal waarnemingen, op deze wijze bij het paard verricht, gaven zonder uitzondering krommen van ditzelfde type.

Hetzelfde is het geval bij stolling van het citraatplasma van het paard. Het citraatplasma werd verkregen door 100 ccM. bloed uit de vena jugularis van het paard toe te voegen aan 10 ccM. van een 10 % oplossing van natriumcitraat in water. Na $^1/_2$ uur centrifugeeren is een vrij helder citraatplasma af te pipetteeren. 3 ccM. van dit plasma + $1^1/_2$ ccM. 0,5 % $CaCl_2$, waargenomen met den extinctiemeter, geeft een kromme, zooals hieronder is afgebeeld.

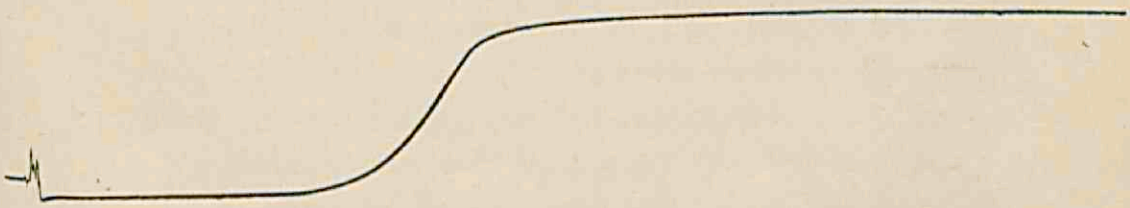


FIG. 6. Stollingskromme van het citraatplasma van een paard op $^1/_3$ van de ware grootte.

Principieel verschilt deze kromme niet van die, betreffende de stolling van het citraatplasma van den mensch.

In acht waarnemingen met het citraatplasma van het paard zijn zonder uitzondering de krommen van ditzelfde type.

In deze vier groepen van waarnemingen zien we telkens, dat bij het begin der stolling een troebeling optreedt, die met het verdere verloop der stolling toeneemt, om niet meer te veranderen, wanneer de verstijving totaal is geworden.

In geen der vier groepen treedt de troebeling op, wanneer om eenige reden de stolling niet plaats vindt; in elk der vier groepen kunnen wij ons gemakkelijk door middel van een staafje overtuigen, dat met het verloop der troebeling ook de verstijving van het bloed toeneemt en eindelijk zien we in alle vier groepen, dat, wanneer de troebeling niet meer toeneemt, ook de verstijving totaal is geworden.

Op grond van deze waarnemingen trek ik dan ook de conclusie:

dat met de stolling van het bloed een troebeling optreedt, die met de stolling gelijken tred houdt en daarmede eindigt.

Deze troebeling is voor objectieve meting direct toegankelijk.

In plaats van het verband tusschen tijd en stolling, waar het mij om te doen was, heb ik het groote voordeel het verband tusschen tijd en troebeling te kunnen nagaan.

HOOFDSTUK III.

Waarnemingsmethode.

De gebruikelijke methoden bepalen meestal den stollingstijd van het bloed.

Onder stollingstijd van bloed wordt verstaan de tijd, die verloopt tusschen het oogenblik, waarop de voor de stolling gunstige factoren hun invloed op het bloed gaan uitoefenen en het moment, waarop de algeheele verstijving juist is ingetreden.

Bij de gebruikelijke methoden wordt het eerste oogenblik aangegeven door het tijdstip, waarop het bloed aan de vaten ontnomen wordt, welk tijdstip nauwkeurig vaststaat; het tweede tijdstip, waar geheele verstijving juist bestaat, wordt meestal door visueele beoordeeling van den graad van verstijving vastgesteld.

De stollingstijd van bloed is een grootheid, die ten nauwste verband houdt met de omstandigheden, waaronder het bloed onmiddellijk na het uittreden uit het bloedvat gebracht wordt; worden deze omstandigheden gewijzigd, dan verandert ook het bedrag van den stollingstijd.

Verschillende factoren oefenen grooten invloed uit.

In de eerste plaats is de aard van de stof, waarmee het bloed in aanraking komt, van belang. Zoo oefent de directe

aanraking van glas een andere invloed uit dan de aanraking met paraffine; bij een aanrakingsoppervlak van paraffine zal de stolling belangrijk trager verloopen dan bij een aanrakingsoppervlak van glas. Weer anders is de invloed van de huid en ook zal deze invloed zelf weer zeer afhankelijk zijn van den toestand, waaronder de huid zich bevindt; b.v. een wondoppervlak of aanwezige bloedstolsels versnellen zeer het stollingsproces, vooral ook zijn eventueele onzuiverheden van belang.

Behalve de aard van het aanrakingsoppervlak is ook de grootte daarvan van beteekenis. De stollingstijd van bloed zal te meer verkort worden, naarmate het oppervlak van aanraking grooter is. Om dezelfde reden versnellen ook ruwheden en verontreinigingen van het glasoppervlak het stollingsverloop. Om dus de vergelijking van stollingstijden betrouwbaar te maken, is het noodzakelijk dezelfde hoeveelheden bloed te gebruiken en op te vangen in glazen vaten van dezelfde grootte, aard en oppervlakte, en te voren zorgvuldig gereinigd.

Een belangrijke invloed gaat ook uit van de temperatuur. Bij hoogere temperatuur verloopt de stolling sneller. Juist bij kamertemperatuur (15—20° C.) zouden verschillen van enkele graden van beteekenis zijn, zooals b.v. Bürker [1]) in een curve aantoont. Een constante temperatuur is noodzakelijk om waarden ter vergelijking te verkrijgen.

Volgens Vierordt zou ook het gasgehalte van het bloed invloed uitoefenen. CO_2 rijk bloed zou volgens hem sneller stollen dan CO_2 arm bloed. Deze invloed is echter nog niet nauwkeurig onderzocht, maar is toch aanleiding om bij venapunctie langdurige stuwingen te vermijden.

In elk geval is het duidelijk, dat vele factoren invloed uitoefenen en dat een bepaalde bloedstollingstijd altijd gebonden is aan zeer bepaalde omstandigheden, waaronder de waarneming geschiedt. Voor het verkrijgen van verge-

---

[1]) Bürker. Pflüger's Archiv. Bd. 118 (1907). Ein Apparat zur Ermittlung der Blutgerinnungszeit.

lijkingswaarden is het noodzakelijk bij de verschillende personen de omstandigheden, waaronder het bloed gebracht wordt, steeds volkomen dezelfde te doen zijn. Wordt ook maar slechts een van deze omstandigheden gewijzigd, dan verandert daarmee ook de bloedstollingstijd.

Met behulp van den extinctiemeter van Moll heb ik getracht den bloedstollingstijd te bepalen; ik heb mij daarbij de ervaringen, in het vorige hoofdstuk beschreven, ten nutte gemaakt.

In de volgende waarnemingen is alleen het oxalaatplasma gebruikt en zijn alle waarnemingen alleen bij den mensch verricht.

Mijn eerste taak moet zijn te zorgen, dat de omstandigheden, waaronder mijn waarnemingen plaats hebben, steeds dezelfde zijn. Daartoe dienen verschillende voorzorgen genomen te worden.

De oplossing van 1 % kaliumoxalaat en 0.85 % natriumchloride in water, waarmee het bloed gemengd wordt, moet nauwkeurig getitreerd worden en vooral ook dienen de zouten zuiver te zijn. Ik gebruikte het zuivere kaliumoxalaat van Kahlbaum en het zuivere keukenzout van Merck; deze zouten werden opgelost in steriel gedestilleerd water in kolven van Jena-glas.

Vooral verontreinigingen van sporen calcium in het keukenzout zijn zeer hinderlijk, hierdoor vormt zich in de oxalaatoplossing het calciumoxalaat, dat de anders geheel heldere oplossing licht troebel maakt.

Deze aanwezigheid van calciumoxalaat is niet alleen daarom nadeelig, omdat daardoor de verhouding der zouten in de oplossing verandert, welke invloed waarschijnlijk slechts gering zal zijn, maar vooral doordat de eenmaal aanwezige kristallen van calciumoxalaat straks, bij het toevoegen van de calciumchloride-oplossing aan het oxalaatplasma, de nieuwe vorming van calciumoxalaat-kristallen in de hand werkt en verhindert, dat dit calciumoxalaat in oplossing wordt gehouden.

Vormen zich de kristallen en slaat dit calciumoxalaat in het bloedplasma neer, dan zal, na de eerste snelle galvanometeruitslag, door de troebeling van het zich vormende calciumoxalaat veroorzaakt, het lichtbeeld van den galvanometer terugloopen, zoodat na de eerste bijna verticale lijn in de curve niet een horizontale, maar een dalende lijn volgt. Treedt de troebeling van uitvlokkende fibrine op, dan zal het begin daarvan bedekt worden door de opheldering, die tengevolge van het kristallijne neerslag ontstaat. Dit is echter niet de eenige nadeelige invloed, die van het neerslaan uitgaat; ook op de snelheid van fibrinevorming mag een invloed verwacht worden; is toch een colloidale oplossing van calciumoxalaat aanwezig, dan bestaat er een grooter aanrakingsoppervlak met het bloed en daarmede een sterkere thromboplastische werking dan bij het vlokkige neerslag van calciumoxalaat.

De zuiverheid der zouten is een vereischte voor de zuiverheid der waarneming.

In een droge steriele Recordspuit van 10 ccM. inhoud, voorzien van een droge steriele naald, wordt van de oxalaatoplossing 1 ccM opgezogen, in de spuit is geen lucht meer aanwezig; daarna wordt venapunctie gedaan in de vena cubitalis van den persoon, wiens bloed men wenscht te onderzoeken en 9 ccM. bloed opgezogen, waarbij dan dus een totaalvolumen van 10 ccM. bereikt is. Op deze wijze mengt zich onmiddelijk het bloed met de oxalaatoplossing, waardoor zoo spoedig mogelijk een stabiele vloeistof verkregen wordt. Alleen dat bloed wordt voor de waarneming gebruikt, dat door de stuwingsdruk als het ware vanzelf in de spuit komt, waarvan dan mag worden aangenomen, dat het vanuit het bloedvat direct in de spuit is gekomen. Is eerst het bloedvat met de naald dubbel doorstoken, zoodat de mogelijkheid bestaat, dat bloed wordt opgezogen, dat eerst met het, het vat omringende, weefsel in aanraking is geweest en eerder invloed op het stollingsproces kan zijn uitgeoefend, dan wordt de venapunctie als mislukt

beschouwd en het bloed niet voor verdere waarneming gebruikt. Evenmin geschiedt dit, wanneer tegelijk met het bloed lucht in de spuit wordt gezogen, in dit geval is de naald niet diep genoeg ingestoken en bestaat er de mogelijkheid, dat het bloed met het onderhuidsche weefsel of de huid zelf in aanraking is geweest; ook is het niet mogelijk nauwkeurig de vereischte 9 ccM. bloed te aspireeren. Nadat de naald van de Recordspuit verwijderd is, wordt het oxalaatplasma in een droog steriel centrifugeerbuisje overgebracht. Na twintig minuten centrifugeeren in een electrische centrifuge wordt het troebele plasma afgepipetteerd met droge steriele pipetten en overgebracht in steriele centrifugeerbuisjes. Dit oxalaatplasma, bevrijd van de bloedlichaampjes, is geschikt voor de waarneming met den extinctiemeter.

De waarneming geschiedt in kleine cuvetten, voor dit doel vervaardigd. Deze cuvetten zijn gemaakt uit één glasplaat, waarvan de dikte met behulp van een micrometer overal dezelfde bevonden is, te weten 0,7 mM. De hoogte, 50 mM., de breedte 25 mM. en de dikte 4,7 mM. zijn bij de verschillende cuvetten nauwkeurig dezelfde gemaakt, de verschillende wanden zijn met behulp van een kit aan elkaar bevestigd.

De inhoud der verschillende cuvetten zal dus gelijk zijn, waarom ook het aanrakingsoppervlak met dezelfde hoeveelheid oxalaatplasma steeds van dezelfde grootte zal zijn, zoodat mag worden aangenomen, dat de invloed van dit aanrakingsoppervlak op het stollingsverloop uitgeoefend, in de verschillende waarnemingen steeds dezelfde zal zijn.

Een moeilijkheid schuilt in de reiniging van deze cuvetten. Alcohol en aether zijn voor dit doel ongeschikt, daar de kit hierdoor wordt aangetast. Het bleek mij, dat bij zorgvuldige reiniging onmiddelijk na iedere waarneming, de fibrine uit het cuvet geheel te verwijderen was, de samenhangende fibrinegelei maakt dit gemakkelijk, daarna werden de cuvetten herhaald met zuiver gedestilleerd water ge-

spoeld en omgekeerd op een zuivere glasplaat gedurende 24 uur te drogen gezet. Op deze wijze schoongemaakt, gelukte het mij in verschillende cuvetten waarnemingen te verrichten met hetzelfde geheel overeenstemmende resultaat, waaruit ik dus mag besluiten, dat de reiniging voor mijn doel voldoende was.

Om de waarnemingen onder gelijke en constante temperatuur te verrichten, maakte ik gebruik van een electrisch verwarmd thermostaatje, voor dit doel gemaakt op aanwijzing van Dr. Moll (fig. 7, 8 en 9).

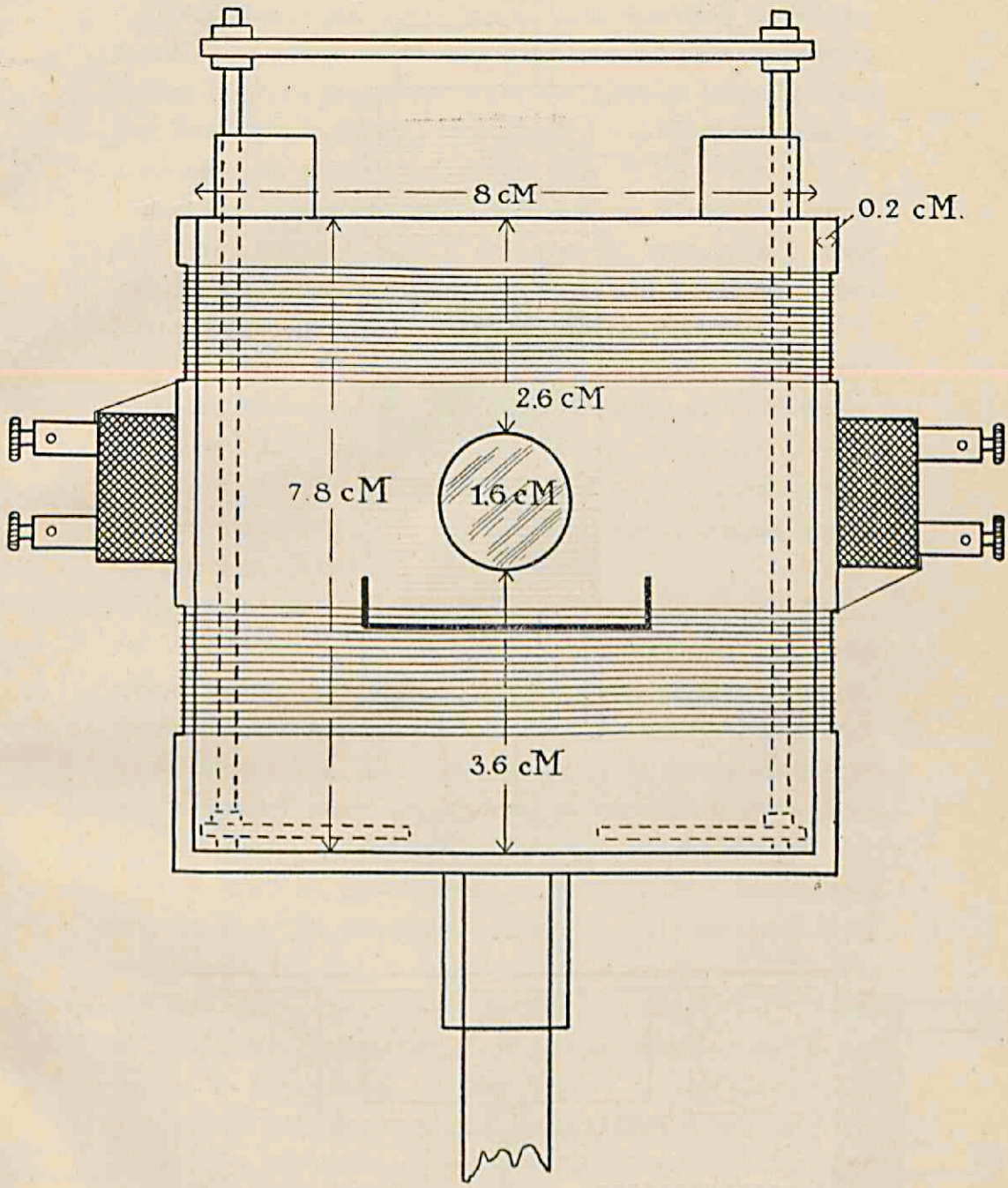


FIG. 7. Thermostaat, schematische voorstelling voorkant.

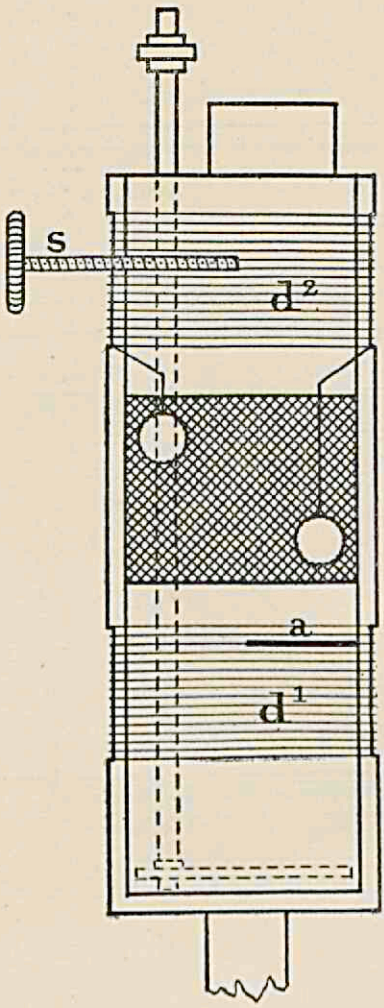


FIG. 8. Thermostaat, schematische voorstelling zijkant.

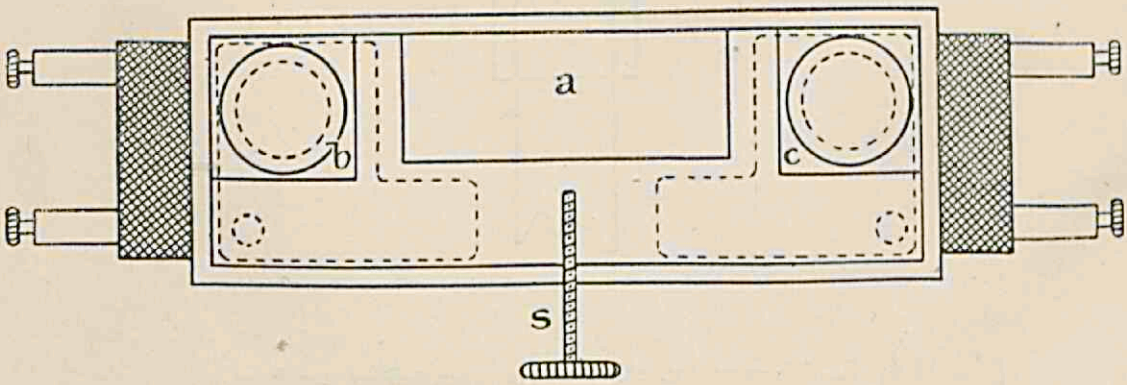


FIG. 9. Thermostaat, schematische voorstelling bovenkant.

Deze thermostaat is een koperen vat, op ebonieten staaf ter isolatie.

Diametraal tegen over elkaar zijn in den voor- en achterwand twee ronde openingen aangebracht, deze openingen in den koperen wand zijn weer met glas gesloten, het doel van deze openingen is het licht van den lichtbron door te laten naar de thermozuil.

Aan den voorwand onder de opening is aan de binnenzijde een koperen plaatje *a* aangebracht, waarop het cuvet met bloedplasma kan rusten. De schroef *s* kan het cuvet geheel tegen den voorwand drukken en fixeeren.

Het plaatje *b*, waarin een kleine opening, is bestemd voor een thermometer, om de temperatuur van het water, waarmee de thermostaat gevuld is, af te lezen. Het plaatje *c*, waarin eveneens een opening, dient om in het warme water een klein buisje door te laten, waarin zich de calciumchloride-oplossing bevindt.

Om het vat zijn draadwindingen d^1 en d^2 gewikkeld, die den electrischen stroom, aangevoerd uit een paar elementen met een spanning van 4 Volt geleiden, en zoodoende het koperen vat en het zich daarin bevindende water verwarmen. Door het water in de thermostaat af en toe te roeren, is de temperatuur in de verschillende lagen van het water dezelfde.

Is eenmaal de gewenschte temperatuur in de thermostaat bereikt, dan kan door het inschakelen van weerstand in de stroomgeleiding de stroom constant gehouden worden. Na verloop van eenigen tijd echter doet zich de invloed van den lichtbron gelden en wordt door warmtestraling van hieruit de temperatuur hooger. Om dit bezwaar te ontgaan, plaatste ik tusschen lichtbron en thermostaat een schijf van asbest, in het midden waarvan zich een ronde opening bevindt, om ongestoord de lichtbundel door te laten naar de thermozuil. Op deze wijze werd de hinderlijke warmtestraling van den lichtbron voorkomen.

Bij de waarneming werd steeds gebruikt gemaakt van

droge steriele pipetten, verdeeld tot in $^1/_{10}$ ccM. Alvorens de calciumchloride-oplossing toe te voegen aan het oxalaatplasma, moeten deze beide de temperatuur bezitten, waarbij de waarneming zal plaats hebben. Deze temperatuur werd in beide vloeistoffen bereikt, door ze vooraf gedurende twintig minuten in de thermostaat te plaatsen. Eerst daarna werd de calciumchloride-oplossing toegevoegd aan het oxalaatplasma, waarna snel met een droog steriel glazen staafje werd geroerd.

Aan 3 ccM. oxalaatplasma werden steeds $1^1/_2$ ccM. $^1/_2$ $^0/_0$ calciumchloride toegevoegd.

Bovengenoemde voorzorgen in acht nemende, werd getracht den stollingstijd van bloed te bepalen.

Als stollingstijd van bloed neem ik aan den tijd, die verloopt tusschen het oogenblik, waarop de calciumchloride-oplossing aan het oxalaatplasma wordt toegevoegd en het moment, waarop de definitieve troebelheid, dus de algeheele verstijving juist is ingetreden.

Aanvankelijk verrichtte ik de waarneming, door elke halve minuut den galvanometerstand te noteeren.

Bij een patient met icterus catarrhalis verkreeg ik als uitkomst van de waarneming van het stollingsverloop bij 22.5° C. de getallen vermeld onder kolom I.

Bij een patient met hypertrofia cordis en hypertensie (systolische bloedsdruk 250 mM. Hg. druk, diastolische 140 mM. Hg.) zijn de uitkomsten vermeld in kolom II.

Bij een persoon, waarbij geen afwijkingen werden gevonden, zijn de uitkomsten vermeld in kolom III.

Waar ik thans de met de stolling gepaard gaande troebeling van oogenblik tot oogenblik metend kon vervolgen, had ik verwacht, het moment, waarop algeheele verstijving, d.w.z. maximale troebelheid, juist optreedt, met groote zekerheid te kunnen vaststellen. Ik werd hierin echter teleurgesteld. Wel leverden sommige bloedsoorten een scherp aan te geven eindmoment van het verstijvingsproces, maar

bij andere specimina was het vaststellen van dat eindmoment onzeker. Wanneer ik verwachtte, dat de maximale troebelheid bereikt was, nam deze na verloop van eenige minuten nog een weinig toe, en ik mag concludeeren, dat ook de verstijving dan nog niet maximaal geworden was.

TIJD	TOENAME VAN UITSLAG		
	I	II	III
Begin	0	0	0
na 1/2 minuut	12,2	96,8	49,2
„ 1 „	5,5	2,2	0
„ 1 1/2 „	0,7	0,6	1
„ 2 „	0,0	0,2	5
„ 2 1/2 „	0,0	0,0	5
„ 3 „	0,0	0,0	3,1
„ 3 1/2 „	0,0	0,0	1,7
„ 4 „	0,5	0,2	0,4
„ 4 1/2 „	1,1	0,2	0,3
„ 5 „	4	0,0	0
„ 5 1/2 „	3	0,0	0
„ 6 „	2,6	0,0	0
„ 6 1/2 „	2,2	0,1	0
„ 7 „	1,5	0,1	
„ 7 1/2 „	1,3	0,1	
„ 8 „	0,7	0,4	
„ 8 1/2 „	0,5	0,5	
„ 9 „	0,8	1	
„ 9 1/2 „	—	1,6	
„ 10 „	0,2	1,6	
„ 10 1/2 „	—	1,8	
„ 11 „	0,1	1	
„ 11 1/2 „	—	0,6	
„ 12 „	0,2	0,3	
„ 12 1/2 „	—	0,1	
„ 13 „	0,1	—	
„ 13 1/2 „		—	
„ 14 „		—	
„ 14 1/2 „		0,2	
„ 15 „			
„ 15 1/2 „			
„ 16 „	0		

In de beide waarnemingen, vermeld in de kolommen I en II werd het einde der 2e troebeling slechts langzaam bereikt, vooral in de IIe waarneming; de laatste twee minuten verplaatste zich het lichtbeeld van den galvanometer slechts 0,2 mM., een geringe toename, waarvan niet nauwkeurig was aan te geven, op welk tijdstip het einde bereikt was. De bepaling van het eindpunt werd daardoor onnauwkeurig, een vrij groote waarnemingsfout was onvermijdelijk.

Er komen ook zeer zeker gevallen voor waar het eindpunt met grootere nauwkeurigheid te bepalen is, zooals b.v. in de waarneming vermeld in kolom III. De stolling verloopt hier in zijn geheel snel en ook het eindpunt wordt snel bereikt.

In het algemeen kan echter gezegd worden, dat het tijdstip, waarop de algeheele verstijving is ingetreden, door het langzame eindverloop niet dan met een betrekkelijk groote fout kan bepaald worden.

Het duidelijkst treedt dit eigenlijk in het licht, wanneer de waarneming geheel objectief geschiedt door photographische registratie van den stand van den spiegelgalvanometer.

Behalve de zuiverheid van een objectieve waarneming en het gemak van de uitvoering, heeft deze ook nog het voordeel, dat eventueele veranderingen in den galvanometerstand door invloeden, die buiten de troebeling gelegen zijn, zooals b.v. lekstroomen, afkoeling van de thermozuil door invloeden van buiten af, direct als iets abnormaals in de kromme in het oog springen.

Door photographische registratie zal het zuiverste beeld van het stollingsverloop verkregen kunnen worden, vrij van elke subjectieve waarnemingsfout.

Het photographisch registreeren is eenvoudig. Het lichtbeeld, door den galvanometerspiegel gereflecteerd, wordt geworpen op voor licht gevoelig papier, dat gewikkeld is om een trommel, die, door een uurwerk gedreven, met constante snelheid om zijn horizontale as draait.

Trommel en drijfwerk bevinden zich binnen een houten kast. De verticale lichtlijn van den galvanometer afkomstig, valt op een vrij wijde horizontale spleet in de kastwand. Daarachter bevindt zich een cylinderlens, die de lichtlijn als lichtpunt op het gevoelig papier concentreert. Na afloop van een waarneming, zal men, na ontwikkeling van het papier, een kromme lijn krijgen van geheel hetzelfde karakter als de graphische voorstelling van een waarnemingsreeks, zooals in fig. 2 werd afgebeeld. Met één oogopslag overziet men het resultaat.

De spleetvormige opening in de kastwand bevindt zich in een verdeelde schaal en kan afgesloten worden door een klep, waarop ook weer een schaalverdeeling is aangebracht.

De waarneming wordt nu als volgt uitgevoerd:

De huid, boven het elleboogsgewricht van den persoon van wien men het bloed wenscht te onderzoeken, wordt met zeepspiritus en aether gereinigd. In een droge steriele recordspuit van 10 ccM., met droge steriele naalden, wordt 1 ccM. 1 % kaliumoxalaat in 0,85 % natriumchloride opgezogen. Daarna wordt een stuwband om den bovenarm gelegd, de venapunctie wordt verricht, waarbij 9 ccM. bloed wordt opgezogen. Nadat de naald van de spuit is genomen, wordt het mengsel in een droog steriel centrifugeerbuisje gebracht, dit centrifugeerbuisje gedurende 20 minuten gecentrifugeerd en het oxalaatplasma, dat zich boven de bloedlichaampjes bevindt, met een droge steriele pipet afgepipetteerd.

3 ccM. van dit oxalaatplasma worden met een droge steriele pipet overgebracht in een droog, zuiver cuvet, dat op het koperen plaatje in de thermostaat geplaatst wordt en met een schroef tegen de voorwand wordt gedrukt; hierbij wordt zorg gedragen, dat de lichtbundel valt door de opening in den achterwand, dat hij geheel door het plasma gaat om door de opening in den voorwand de thermozuil te treffen.

Tegelijkertijd wordt een klein reageerbuisje met $^1/_2$ % calciumchloride in de thermostaat gezet; aan de andere zijde van de thermostaat bevindt zich een thermometer.

Gedurende twintig minuten wordt nu gewacht om te waken voor een constante temperatuur, in dezen tijd is tevens een evenwichtstoestand bereikt tusschen de beide thermozuilen, de z.g.n. nulstand verloopt niet meer, ook mag worden aangenomen, dat het bloedplasma en de calciumcloride-oplossing de temperatuur van de omgeving hebben aangenomen.

In deze twintig minuten wordt gelegenheid gevonden in een donkere kamer om den registreertrommel gevoelig papier te leggen en daarna het projectiebeeld van het lichtbeeld van den galvanometer scherp op den trommel in te stellen.

Na twintig minuten wordt alleen nog rood licht in de kamer toegelaten. Door verschuiving van een hefboompje buiten het registreerkastje begint het uurwerk te loopen, waarna de trommel om zijn as draait.

De langwerpige klep vóór de spleetvormige opening wordt neergelaten, het lichtbeeld van den spiegelgalvanometer wordt op het gevoelig papier vastgelegd.

Gedurende een paar minuten wordt nu alles aan zichzelf overgelaten, daarna wordt $1^1/_2$ ccM. $^1/_2$ % calciumchloride aan de 3 ccM. oxalaatplasma toegevoegd, onmiddellijk daarop wordt met een droog steriel glazen staafje gedurende 45 seconden snel geroerd en het geheele proces aan zichzelf overgelaten. Wanneer we op de schaalverdeeling zien, dat voor de 2de maal de galvanometerstand niet meer verandert, wordt de klep voor de spleetvormige opening weer gesloten.

Daarna wordt het registreerkastje in een donkere kamer gebracht, het papier afgenomen, ontwikkeld en gefixeerd. Het blijkt dan, dat een kromme van nevensstaand type is verkregen. Figuur 10 is een getrouwe reproductie op natuurlijke grootte van zulk een troebelingskromme.

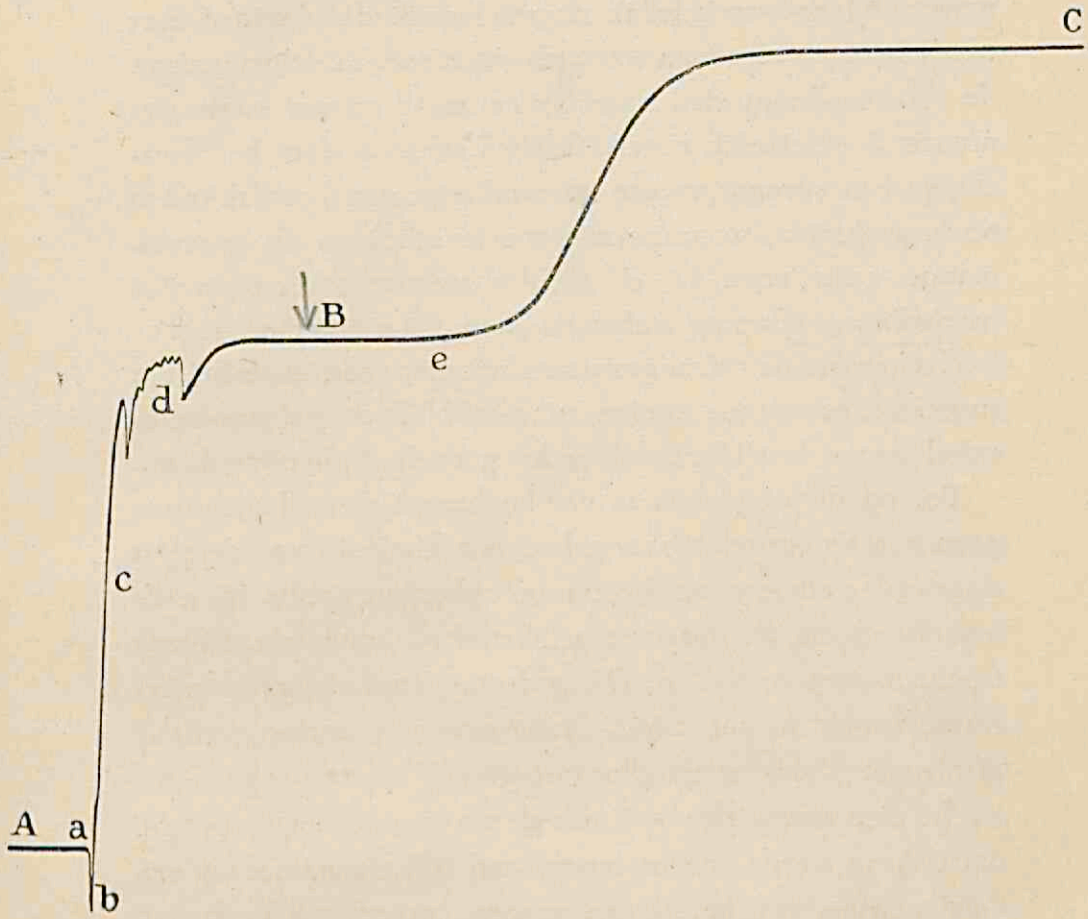


FIG. 10.

Op de verticale as is de troebelingstoename, op de horizontale het tijdsverloop af te lezen. Het tijdsverloop van één minuut komt overeen met den afstand van 11 mM. op de horizontale as.

In deze kromme zijn drie horizontale gedeelten te onderscheiden A, B en C. A geeft den onbewegelijken galvanometerstand aan gedurende den tijd, dat alleen het oxalaatplasma zich tusschen lichtbron en thermozuil bevindt.

a. geeft het oogenblik aan, waarop de calciumchloride-oplossing wordt toegevoegd, het eerste oogenblik wordt het plasma helderder zie *b*, wat wellicht daaraan is toe te schrijven, dat het eerste oogenblik het plasma verdund

wordt. Maar onmiddellijk daarna wordt de vloeistof zeer troebel tengevolge van het zich vormende calciumoxalaat, de kromme loopt steil naar boven, zie *c* en zou daarna het niveau B geleidelijk bereikt hebben, zoo niet door het roerstaafje een sprongsgewijze verzwakking van het licht werd teweeggebracht, waaraan zijn toe te schrijven de onregelmatige kartelingen bij *d*, die dus niets met het eigenlijke troebelingsverloop te maken hebben.

Het gevormde calciumoxalaat slaat niet neer, maar blijft in suspensie, gedurende eenige minuten blijft de galvanometer stand precies dezelfde, zooals op het gedeelte B tot uiting komt.

Tot op dit oogenblik is van het eigenlijke stollingsproces geen sprake, en schijnbaar geheel onafhankelijk van de eerst opgetreden troebeling begint op zeker oogenblik bij *e* de verstijving en de, daarmee gelijken tred houdende, tweede troebeling op te treden. Dit gedeelte van de kromme interresseert ons nu het meest. Haar vorm is een objectieve afspiegeling van het stollingsproces.

Uit dien vorm zien wij, dat de stolling geleidelijk begint, om daarna steeds sneller tempo aan te nemen, totdat een maximumsnelheid bereikt is, waarna weer een vertraagd tempo optreedt en eindelijk geleidelijk de eindwaarde bereikt wordt.

Deze juist beschreven kromme is in beginsel dezelfde als de kromme op pag. 16 en 17. Het verschil is alleen, dat deze kromme photographisch is geregistreerd, terwijl de twee andere zijn verkregen door graphische voorstelling van visueele waarnemingen. Het zuiverder karakter van de photographie komt o. a. reeds uit in het eerste verticale lijntje *a b*, dat mij bij visueele waarneming ontgaan was.

De moeilijkheid, reeds op pag. 35 en 36 besproken, om den bloedstollingstijd te bepalen, blijkt duidelijk uit het verloop van deze kromme, ze gaat zoo geleidelijk in het horizontale gedeelte C over, dat van een nauwkeurig te bepalen eindpunt wel geen sprake kan zijn. Evenmin is het beginpunt bij *e* precies te bepalen.

De vraag doet zich dan ook voor, of er op andere wijze vaste punten op de kromme geconstrueerd kunnen worden, waardoor wij de kromme zouden kunnen typeeren.

Dit is zeer zeker het geval.

De afstand tusschen de twee horizontale lijnen B en C, die wij de hoogte van de kromme zullen noemen, is in millimeters juist uit te drukken.

Het snijpunt van de kromme met een horizontale lijn, getrokken door het middelpunt van de verticale lijn tusschen B en het verlengde van C, is het tijdstip, waarop de halve hoogte van de troebelingskromme bereikt is. Dit punt is een vast punt op de kromme.

Op dezelfde wijze kunnen door horizontale lijnen te trekken door de punten, die op $^1/_8$; $^2/_8$; $^3/_8$; $^5/_8$; $^6/_8$ en $^7/_8$ van de loodlijn tusschen B en C gelegen zijn, de snijpunten met de kromme gevonden worden, die respectievelijk de tijdstippen aangeven, waarop $^1/_8$, $^2/_8$, $^3/_8$, $^5/_8$; $^6/_8$ en $^7/_8$ van de hoogte van de kromme bereikt zijn. Al deze punten zijn nauwkeurig te construeeren en als volkomen vaste punten op de kromme te beschouwen.

Ook de tijd, verloopende tusschen de oogenblikken, waarop deze verschillende hoogten van de kromme bereikt zijn, kan als een nauwkeurige grootheid gemeten worden; hij vindt eenvoudig een maat in den afstand der verschillende punten, geprojecteerd op een horizontale lijn.

Practisch kan de meting als volgt worden uitgevoerd:

De horizontale lijn C wordt verlengd.

In een willekeurig punt t wordt een loodlijn op B neergelaten, die het verlengde van C snijdt in t_8, de lijn $t\,t_8$ is de hoogte van de kromme; t_1, t_2, t_3, enz. liggen respectievelijk op $^1/_8$, $^2/_8$, $^3/_8$, enz. van deze hoogte.

De snijpunten van de horizontale lijnen door t_1, t_2, t_3, enz. met de kromme zijn de punten t'_1, t'_2, t'_3, enz., die respectievelijk op $^1/_8$, $^2/_8$, $^3/_8$, enz. van de hoogte der kromme gelegen zijn.

De tijd, verloopen tusschen de oogenblikken, waarop

t'_1 en t'_2, dus $^1/_8$ en $^2/_8$ van de hoogte van de kromme bereikt zijn, wordt gemeten door het verschil in lengte te meten tusschen $t_1 t'_1$ en $t_2 t'_2$.

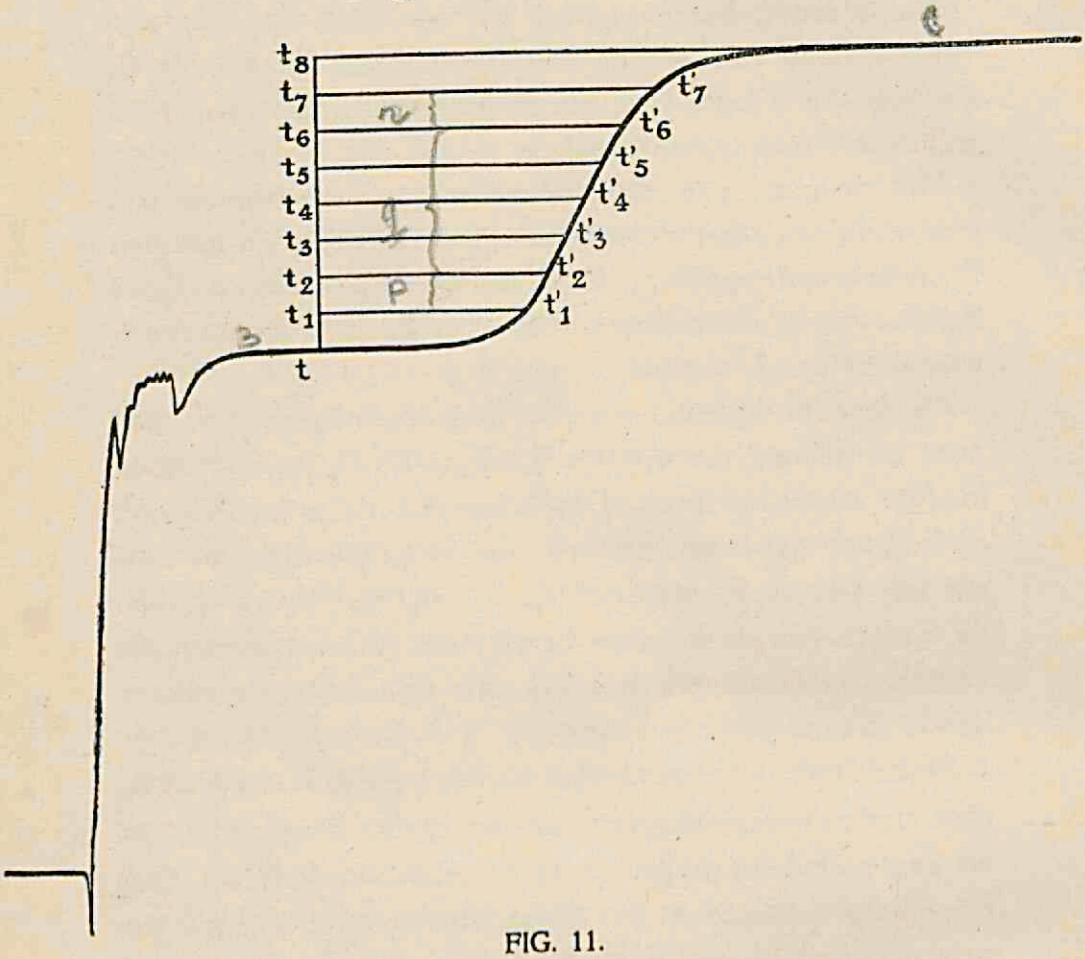


FIG. 11.

Op deze wijze is elk willekeurig deel der kromme te typeeren en zijn voor onderlinge vergelijking van verschillende personen grootheden aanwezig, die met een uiterst geringe fout nauwkeurig te meten zijn.

Als vergelijkingswaarden tusschen de krommen onderling kozen wij:

1. den tijd, verloopende tusschen de oogenblikken, waarop $^1/_8$ en $^2/_8$ van de hoogte der kromme bereikt zijn; $t_2 t'_2 - t_1 t'_1$; dezen tijd noemen wij p.

2. den tijd, verloopende tusschen de oogenblikken, waarop

$^2/_8$ en $^6/_8$ van de hoogte der kromme bereikt zijn; $t_6 t'_6 — t_2 t'_2$; dezen tijd noemen wij q.

3. den tijd, verloopende tusschen de oogenblikken, waarop $^6/_8$ en $^7/_8$ van de hoogte der kromme bereikt zijn; $t_7 t'_7 — t_6 t'_6$; dezen tijd noemen wij r.

Een enkele opmerking moge nog gemaakt worden om uit te laten komen, dat de zoo juist beschreven bepaling van p, q en r op grootere nauwkeurigheid aanspraak kan maken dan de bepaling van den stollingstijd, d. i. dus het oogenblik, waarop de kromme juist het horizontale niveau C bereikt heeft.

Een geringe fout in de lengtebepaling $t t_8$ zou oorzaak zijn, dat het punt, waarop de kromme het horizontale niveau C juist bereikt zou hebben, betrekkelijk ver naar links of rechts verlegd zou worden; een relatief kleine fout in verticale meting van de kromme neemt omstreeks het eindpunt op de horizontale as, waarop het tijdsverloop wordt aangegeven, direct een grootere afmeting aan, daar het laatste gedeelte der kromme bijna met de horizontale C samenvalt.

Dezelfde fout in de lengtebepaling van $t t_8$ wordt bij de bepaling der punten op de verschillende hoogten reeds telkens verkleind, zoo b.v. bij de bepaling van t_2 op $^1/_4$ der fout, enz. en bovendien zijn de snijpunten van de horizontale lijnen met de kromme nauwkeuriger door het sterker verloop der kromme in dit gedeelte.

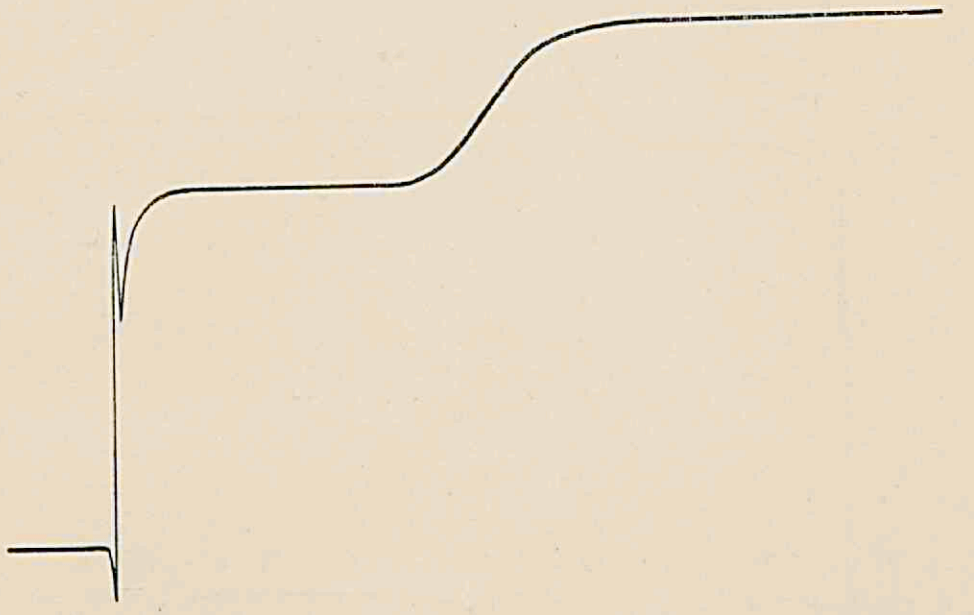
In het middengedeelte zullen de tijdsbepalingen het nauwkeurigst kunnen worden verricht, terwijl omstreeks het begin- of eindpunt deze tijdsbepalingen aan juistheid zullen moeten inboeten.

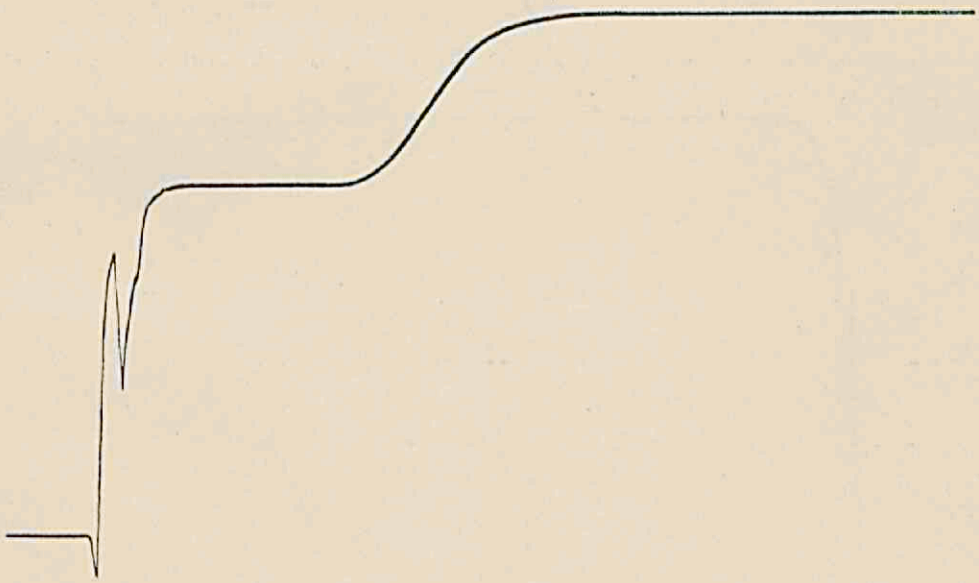
HOOFDSTUK IV.

Contrôlewaarnemingen.

Indien deze methode ter bepaling van de snelheid, waarmede de stolling van het bloed van een bepaald individu verloopt, een betrouwbaar inzicht daarin geeft, dan zullen de uitkomsten der waarnemingen, verricht onder dezelfde omstandigheden, met het bloed van hetzelfde individu, gelijk moeten zijn.

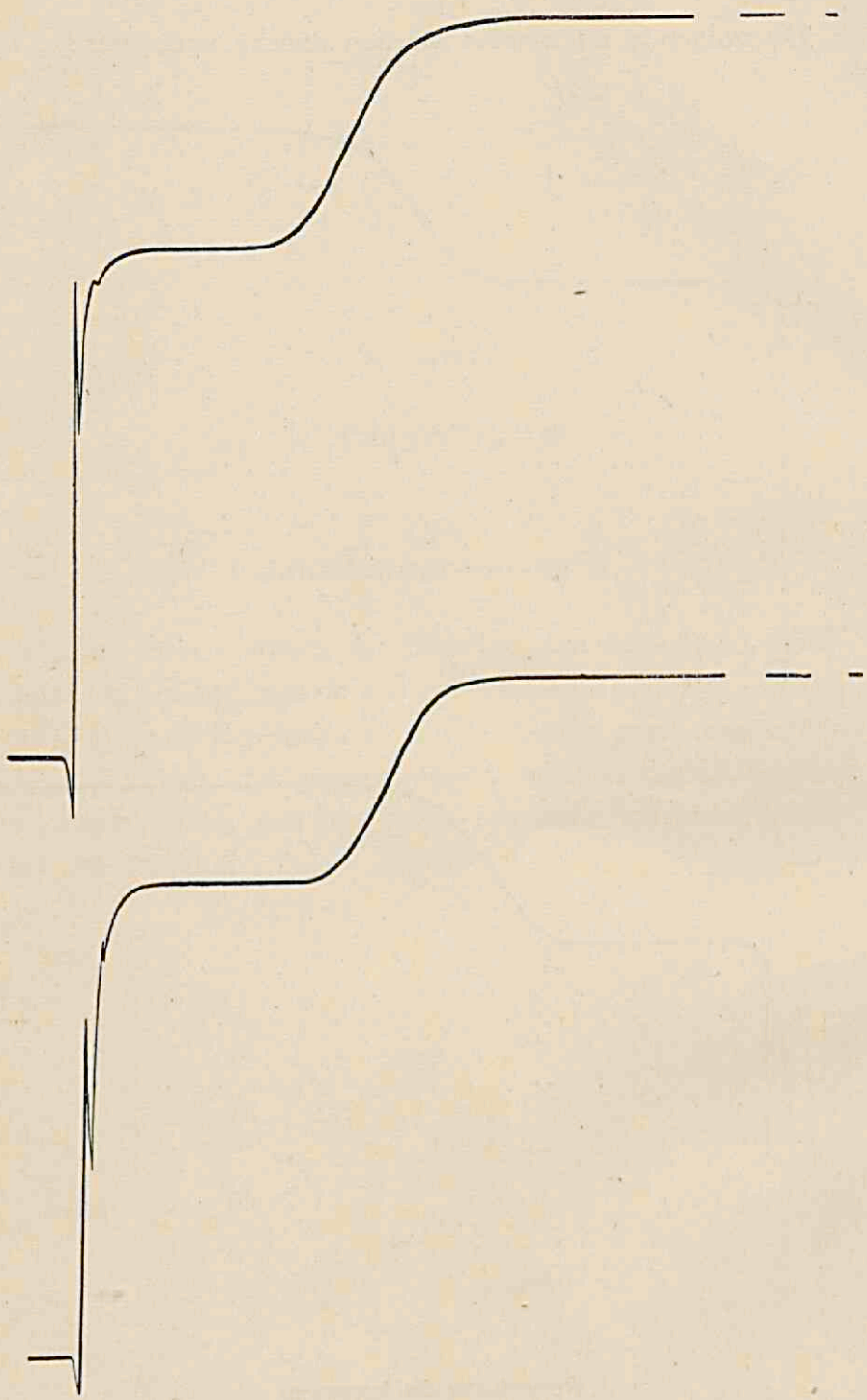
De volgende uitkomsten werden daarbij verkregen:





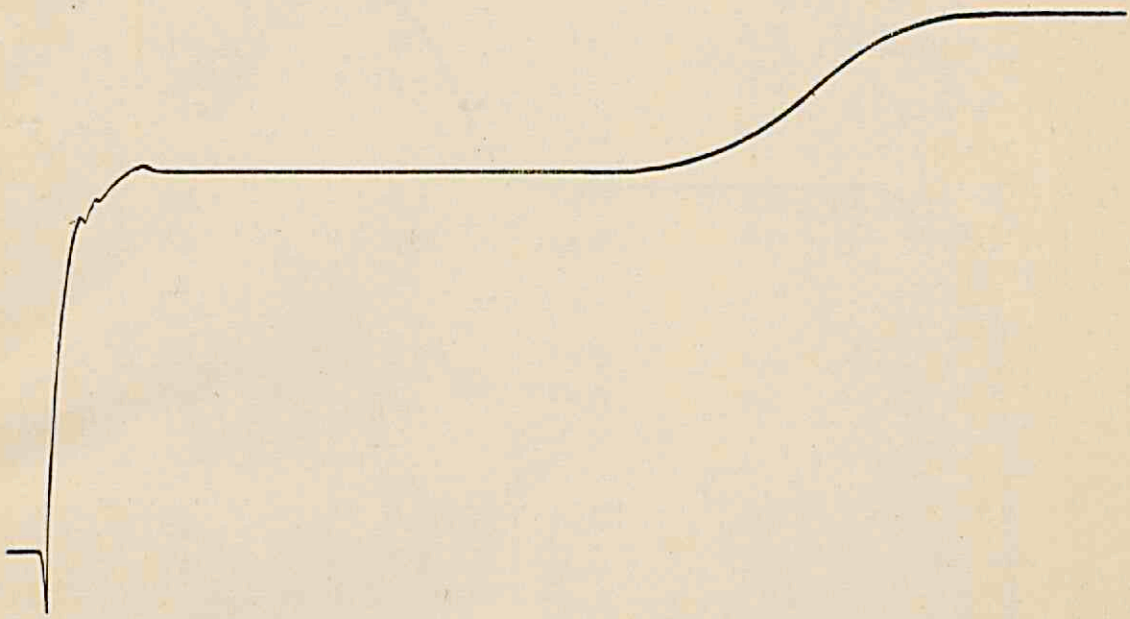
Reproductie der krommen.

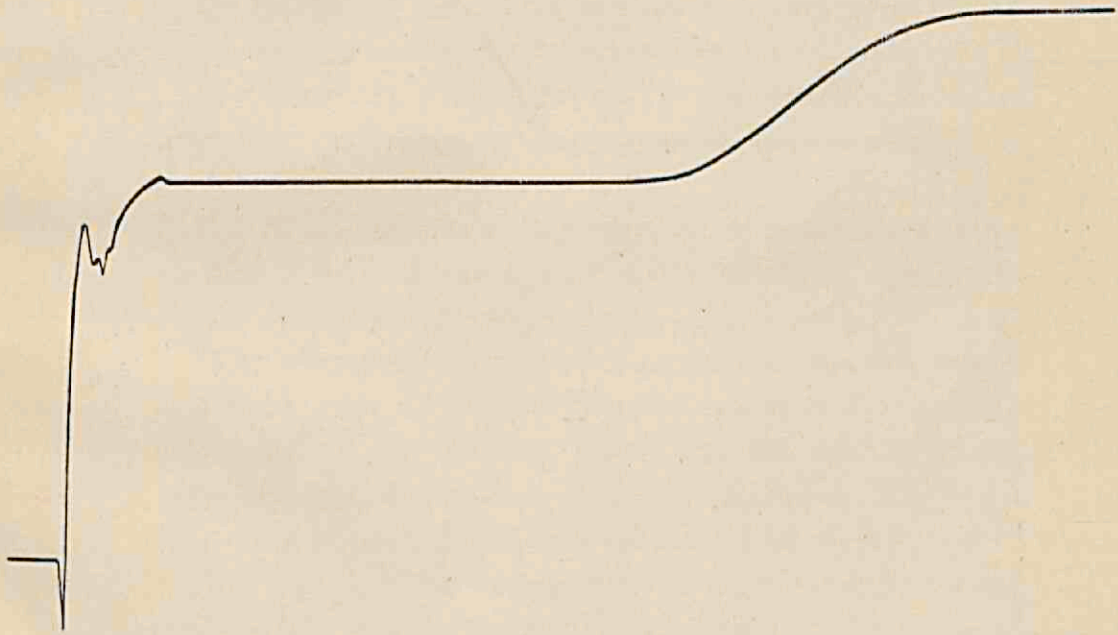
	p	*q*	*r*
1*a*.	2,0	7,0	3,0
1*b*.	2,0	7,0	3,3



Reproductie der krommen.

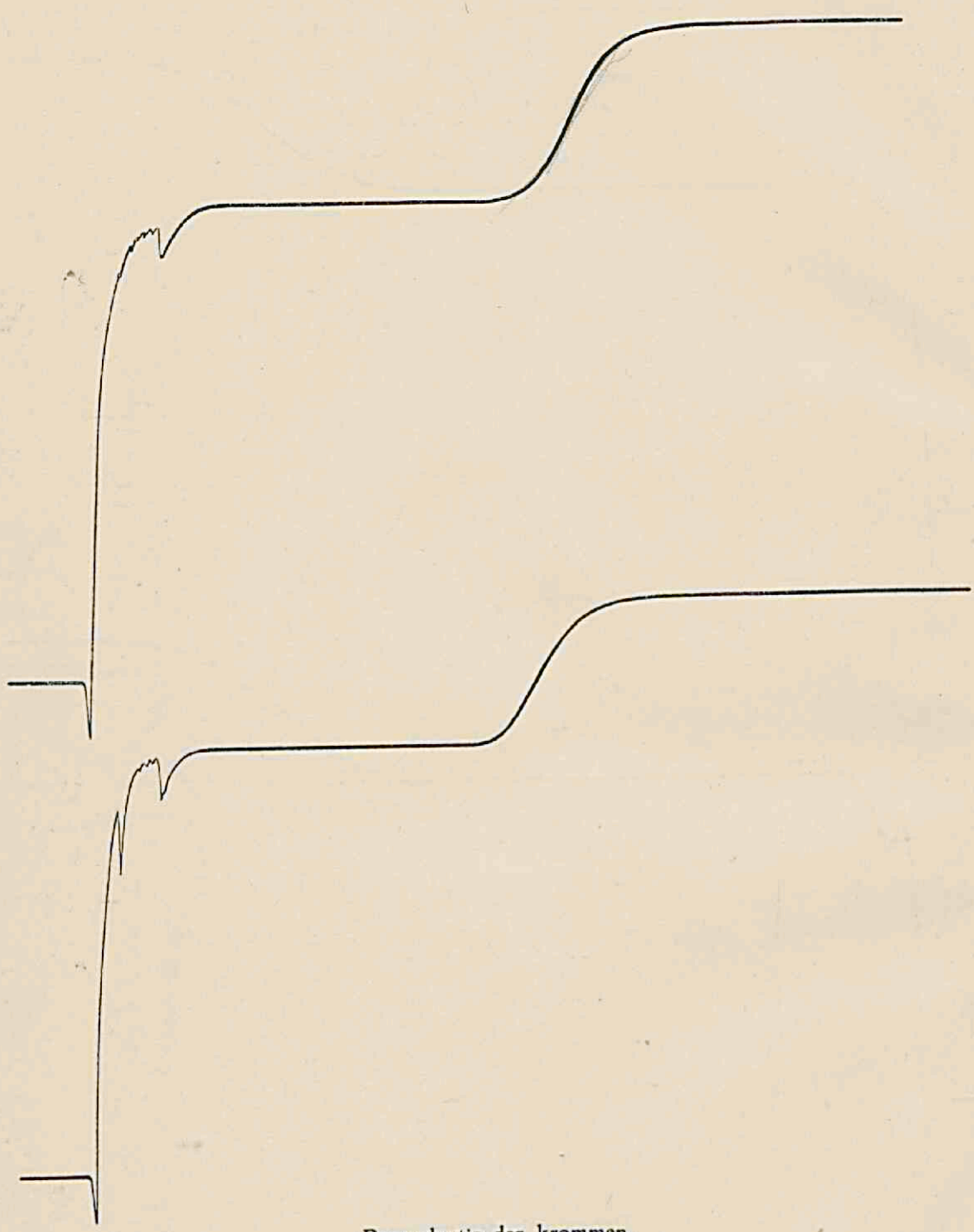
	p	*q*	*r*
2*a*.	2,1	6,6	2,6
2*b*.	1,8	6,2	2,2





Reproductie der krommen.

	p	*q*	*r*
3*a*.	3,6	12,3	4,5
3*b*.	3,6	12,4	4,7



Reproductie der krommen.

	p	q	r
4*a*.	2,0	6,0	2,5
4*b*.	2,0	6,0	2,6

	p	*q*	*r*
5*a*.	4,5	11,8	4,5
5*b*.	4,3	11,4	4,0
6*a*.	4,5	18,0	8,0
6*b*.	4,5	18,0	8,0
7*a*.	7,0	14,5	6,0
7*b*.	7,0	15,0	6,0
8*a*.	6,5	10,0	5,8
8*b*.	5,9	10,0	5,6

De resultaten, telkens bij één persoon verkregen, blijken een goede overeenkomst te vertoonen.

Weliswaar is vrijwel in elk tweetal tusschen de beide krommen onderling verschil op te merken, procentueel is de fout gering.

Het tweede paar krommen vertoont de grootste afwijking, en hier is de fout van *p* en *r* ook procentueel vrij groot, bij de *q* bedraagt ze nog geen $6^1/_2\,^0/_0$.

Deze identieke objectieve waarnemingen zijn een krachtige steun voor de betrouwbaarheid van de methode. Toch maakt het af en toe den indruk, dat we twee krommen voor ons zien, die, wat de vergelijkingsgetallen betreft, gelijk, maar oogenschijnlijk van een verschillend type zijn.

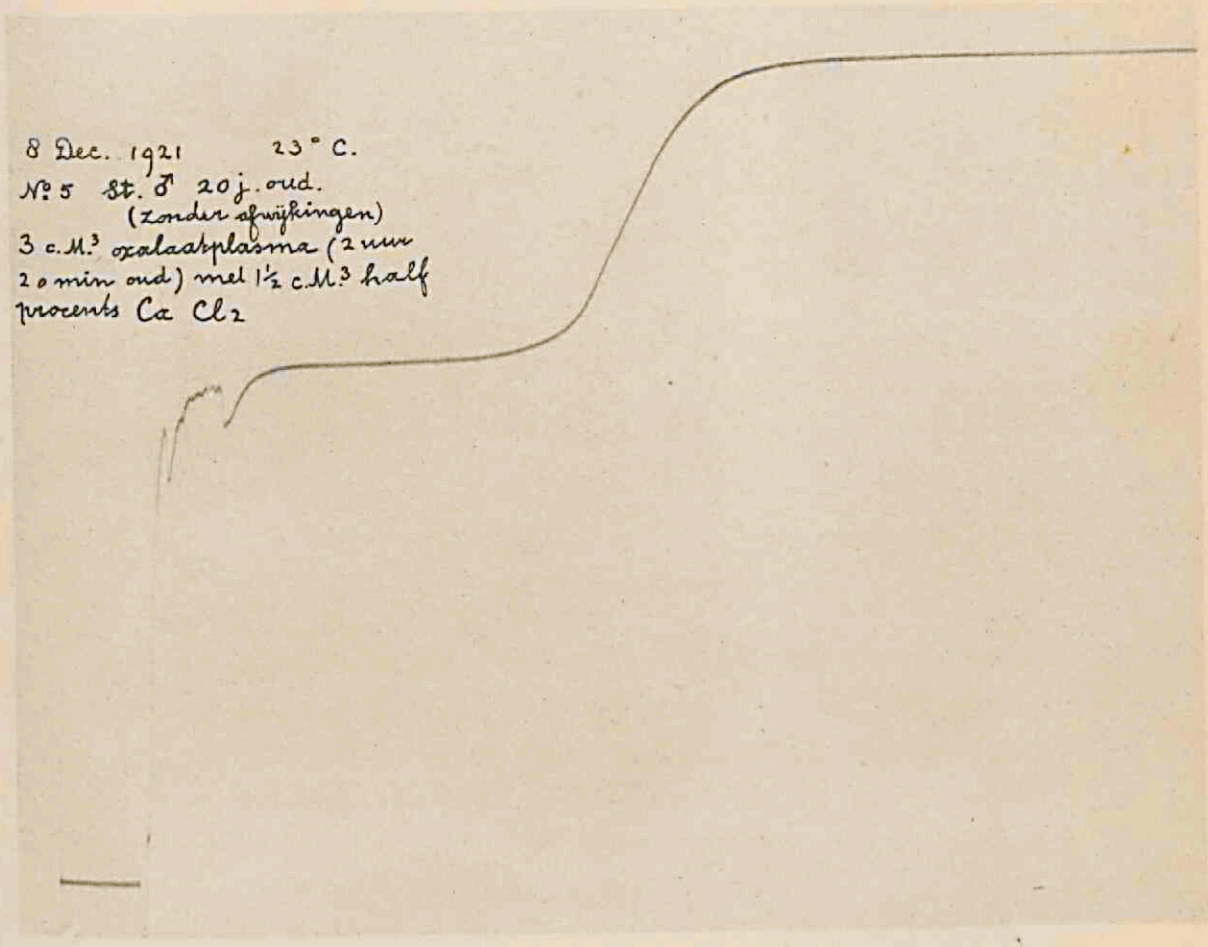
Zoo kan b. v. de hoogte van de eene kromme grooter zijn dan die van de andere, waarbij dan ook een steiler verloop in de kromme zichtbaar is. Toch kan hier een geheel indentiek stollingsproces aan ten grondslag liggen. Naast het biologisch proces verloopt een physisch proces; in dit laatste kan eenige wijziging gekomen zijn, waardoor andere afmetingen in de kromme tot uiting komen.

Bij een sterk magnetisch veld, waarin zich de galvanometer bevindt, vindt men b.v. een grooteren uitslag van den galvanometer bij aanwezigheid van denzelfden thermostroom dan bij een zwak magnetisch veld. In de verhouding van tijd en stolling brengt dit geen verandering, wij zien dan ook in een dergelijk geval, dat met grootere hoogte der kromme een steiler verloop gepaard gaat, zoo dat de hiervoor beschreven vergelijkingsgetallen dezelfde zijn.

Van grootere beteekenis is in dit opzicht de straling van het lampje, bij een betrekkelijk klein verschil in stroomtoevoer neemt de straling naar verhouding sterk toe of af, zoodat daardoor een groote invloed op de grootte van den galvanometer-uitslag uitgaat. Dat in een dergelijk geval de grootere uitslag toch indentiek is met de kleinere, kan ook nog aangetoond worden door de opgetreden troebeling procentueel te meten met behulp van den compensatieschakelaar, zooals op pag. 9 en 10 uitvoerig beschreven is. In verschillende contrôle-waarnemingen zag ik deze procentueele lichtsverzwakking volkomen gelijk.

Uit deze mogelijke veranderingen van de physische componenten bij de meting volgt de noodzakelijkheid voor een nauwkeurige bepaling het stollingsproces photographisch te registreeren.

Het van oogenblik tot oogenblik vastleggen van het stollingsproces, waarborgt de beste resultaten.



Photographische reproductie op natuurlijke grootte van een photographisch geregistreerde stollingskromme.

De, in dit proefschrift opgenomen, diagrammen zijn geteekende krommen, en niet de geregistreerde opnamen zelf. Verschillende opnamen leenden zich namelijk minder voor reproductie, hetzij omdat er geringe onwezenlijke storingen op waren getreden, tengevolge van de aanwezigheid van anderen in het vertrek, hetzij omdat het geval zich herhaaldelijk voordeed, dat het lichtbeeld gedurende het experiment verplaatst moest worden. Dit deed zich alleen voor, bij het ontstaan der eerste troebeling, welke meermalen een zoo grooten galvanometeruitslag veroorzaakte, dat het lichtbeeld niet op het gevoelig papier zou vallen. Enkele der geteekende krommen zijn dus min of meer geschematiseerd. De resultaten werden echter ontleend aan het oorspronkelijk materiaal.

Bovenstaande photographische reproductie van een der opgenomen diagrammen moge een oordeel geven over de betrouwbaarheid der methode van waarneming.

HOOFDSTUK V.

Waarnemingen, verricht bij constante temperaturen.

Bij verschillende temperaturen zijn een aantal waarnemingen verricht meestal bij jonge personen, waarvan het niet bekend is, dat zij stoornissen in de bloedstolling hebben en waarbij het klinisch onderzoek en het morphologisch bloedonderzoek ook geen bijzonderheden in de stolbaarheid van het bloed doet vermoeden.

De serieën van waarnemingen zijn verricht respectievelijk bij 23° C., 19° C. en 15° C.

WAARNEMINGEN BIJ 23° C.

No.	Hoogte der kromme	Tijd tot stollingsbegin	No.	*p*	*q*	r
1. D. ♂ 20 j. Insuff. mitr.	47,4	27	1	2,8	12,0	6,0
2. S. ♂ 20 j. Long t.b.c.	48,8	33	2	2,0	9,4	5,6
3. J. ♂ 26 j. Niersteen	28,5	40	3	2,2	12,0	6,0
4. I. ♂ 20 j. Insuff. mitr.	28,2	32	4	3,0	11,0	5,5
5. St. ♂ 20 j. zonder afw.	33,1	30	5	3,0	9,0	4,0
6. W. ♂ 20 j. zonder afw.	20,6	32	6	1,5	7,0	2,5
7. P. ♂ 20 j. zonder afw.	29,0	46	7	2,0	10,5	5,0
8. R. ♂ 20 j. zonder afw.	24,8	42	8	2,3	10,5	5,0
9. S. ♂ 20 j. zonder afw.	29,0	35	9	2,0	8,0	4,0
10. P. ♂ 26 j. zonder afw.	39,0	34	10	3,0	11,0	6,0
11. H. ♂ 22 j. zonder afw.	13,0	44	11	4,0	12,0	5,2
12. S. ♂ 20 j. zonder afw.	7,0	27	12	2,6	11,0	5,4
13. M. ♂ 20 j. zonder afw.	19,5	35	13	3,3	11,0	3,0
14. H. ♂ 40 j. zonder afw.	37,0	27	14	2,5	10,5	8.0
15. M. ♂ 20 j. zonder afw.	9,0	32	15	3,2	6,6	2,2
16. S. ♂ 20 j. zonder afw.	12,0	20	16	3,5	11,0	6,5
17. V. ♂ 20 j. zonder afw.	8,5	30	17	3,0	13,0	6,5
18. V. ♂ 22 j. zonder afw.	15,2	35	18	3,5	13,0	8,5
19. H. ♂ 20 j. Ict. cat.	18,8	35	19	3,0	18,0	9,0
20. Kr. ♂ 20 j. Anaem. gravis	22,0	20	20	4,0	17,0	10,0

WAARNEMINGEN BIJ 19° C.

No.	Hoogte der kromme	Tijd tot stollingsbegin	No.	*p*	*q*	*r*
1. K. ♂ 19 j. Topcatarrh	16,5	45	1	3,0	10,2	4,0
2. Fr. ♂ 35 j. zonder afw.	30,8	45	2	5,0	18,0	10,0
3. G. ♂ 35 j. zonder afw.	20,8	56	3	3,6	15,6	5,6
4. Gr. ♀ 28 j. zonder afw.	16,2	48	4	4,0	18,0	6,0
5. K. ♂ 44 j. Diabetes	35,9	37	5	2,6	14,0	6,5
6. Kl. ♂ 23 j. Tuberc. pulm.	23,0	45	6	3,5	13,0	4,5
7. v.D. ♂ 21 j. zonder afw.	24,6	58	7	3,0	13,8	8,7
8. A. ♂ 20 j. genezen Pneumonie	16,5	52	8	3,0	14,0	7,5
9. v.D. ♂ 20 j. Colitis	27,0	63	9	4,0	15,0	5,5
10. P. ♂ 20 j. Pleuritis exsud.	19,0	60	10	2,0	13,8	4,0
11. K. ♂ 20 j. Ulc. ventr.	31,5	54	11	6,0	23,0	12,5
12. B. ♂ 22 j. zonder afw.	34,5	61	12	7,0	24,0	9,5
13. R. ♂ 29 j. zonder afw.	16,0	63	13	3,2	10,5	3,8
14. D. ♂ 19 j. zonder afw.	6,0	42	14	4,2	15,0	4,8
15. L. ♂ 20 j. zonder afw.	27,6	37	15	3,0	15,0	6,8
16. W. ♂ 20 j. zonder afw.	26,0	39	16	4,0	15,8	7,2
17. P. ♂ 20 j. zonder afw.	20,0	36	17	2,5	12,5	4,5

WAARNEMINGEN BIJ 15° C.

No.	Hoogte der kromme	Tijd tot stollingsbegin	No.	p	q	r
1. H. ♂ 40 j. Hypertensie Hypertr. cord.	16,8	56	1	3,7	15	6
2. B. ♂ 21 j. zonder afw.	23,8	64	2	7,0	35	16,0
3. de B. ♂ 32 j. zonder afw.	22,8	82	3	7,0	24,7	6,8
4. O. ♂ 21 j. zonder afw.	8,0	41	4	3,5	14,5	6,5
5. te L. ♂ 21 j. zonder afw.	19,4	69	5	3,5	16,7	6,1
6. B. ♂ 22 j. genezen Pneumonie	18,8	31	6	8,0	25,0	12,0
7. de V. ♂ 20 j. Topcat.	25,9	50	7	3,2	15,0	6,0
8. W. ♂ 22 j. Cholilith.	24,4	47	8	4,0	14,0	5,7
9. L. ♂ 20 j. Hysterie.	28,4	63	9	4,0	15,0	4,6
10. D. ♂ 21 j. genezen Pneumonie	22,0	78	10	6,0	19,4	8,6
11. St. ♂ 23 j. T.b.c. pulm.	58,0	92	11	7,0	23,0	9,7
12. v. L. ♂ 28 j. zonder afw.	17,4	43	12	4,0	19,0	8,5
13. de R. ♂ 36 j. zonder afw.	22,0	45	13	3,0	13,5	5,5
14. P. ♂ 24 j. Nephritis	48,4	60	14	5,2	26,8	16,0
15. Ch. ♂ 30 j. zonder afw.	24,2	67	15	5,5	21,5	8,0
16. de L. ♂ 20 j. genezen Influenza	24,2	40	16	3,2	12,8	6,2
17. B. ♂ 20 j. zonder afw.	20,5	49	17	4,0	17,3	9,7
18. Lw. ♂ 20 j. Topcat.	20,8	92	18	3,5	14,0	4,0

Naar aanleiding van deze drie serieën van waarnemingen kunnen verschillende opmerkingen gemaakt worden.

Vergelijken wij de drie tabellen, dan zien wij, dat er in het algemeen gesproken een duidelijke invloed van de temperatuur is. We zien bij 23° C. in het algemeen een korteren tijd tot het stollingsbegin dan bij 19° C. en hierbij nog weer een korteren tijd dan bij 15° C.

Hetzelfde geldt in het algemeen gesproken voor de snelheidscoëfficienten *p*, *q* en *r*; deze zijn in het algemeen kleiner bij hooge temperatuur dan bij lagere.

Om eenigszins een indruk te krijgen over de temperatuursinvloed, kan bij elke serie-waarnemingen het gemiddelde genomen worden.

Als gemiddelden gelden dan bij:

Temp.	Tijd tot Stollingsbegin	*p*	*q*	*r*
23° C.	33.4	2,8	10,5	5,4
19° C.	50.3	3,8	15,5	6,6
15° C.	59.4	4,75	19,0	8,1

Bij het berekenen van deze gemiddelden zijn de waarnemingen n°. 19 en n°. 20 uit de eerste serie niet begrepen; de snelheidscoëfficienten zijn hier respectievelijk 3,18,9 en 4,19,10 bij een temperatuur van 23° C. en zijn belangrijk hooger, dan al de andere uitkomsten bij die temperatuur. Waar in het eene geval een aanzienlijke icterus bestond en in het andere geval een hooggradige anaemie (haemoglobine 15 %; 1.300.000 roode bloedlichaampjes; 6.500 witte bloedlichaampjes; 145.000 bloedplaatjes; in het gekleurde praeparaat anisocytose en poikylocytose); bestaat zeer zeker de mogelijkheid, dat aan deze beide patholo-

gische omstandigheden het veel tragere stollingsproces moet geweten worden. Daarom zijn deze waarden niet betrokken in de berekening van een gemiddelde, dat eenigszins een indruk moet geven van de stolling, zooals ze voorkomt bij personen, bij wie geen afwijking in de bloedstolling verwacht wordt.

De opmerking over den invloed van de temperatuur op den tijd tot het stollingsbegin en op de snelheidscoëfficienten mag alleen in het algemeen uitgesproken worden, voor elke waarneming afzonderlijk mag ze niet geuit worden. Bij een en dezelfde temperatuur zijn bij verschillende individuen vrij groote variaties mogelijk, zoodat het gebied, wat de grootte der vergelijkingsgetallen betreft, van de waarnemingen, verricht bij 19° C., aan den eenen kant samenvalt met het gebied van de waarnemingen, verricht bij 23° C., aan den anderen kant met het gebied van de waarnemingen, verricht bij 15° C.

De tweede opmerking naar aanleiding der tabellen is, dat het niet voldoende is, een kromme alleen met de grootheid q aan te geven. Door q alleen wordt ze niet getypeerd. Twee krommen met eenzelfde q kunnen, wat de p en de r betreft, verschillen in vrij belangrijke mate, zooals uit een overzicht der tabellen direct blijkt. Hieruit volgt onmiddellijk, dat het niet mogelijk is, een standaardtype voor een kromme van de bloedstolling aan te geven.

Een constante verhouding tusschen p, q en r is niet aanwezig, wel kan in het algemeen gezegd worden, dat bij een kleine p behoort een kleine q en een kleine r, op dezen regel zijn echter verschillende uitzonderingen aan te wijzen.

Evenmin bestaat er een bepaalde verhouding tusschen den tijd, die verloopt tot het begin der stolling en de snelheidscoëfficienten.

Zoo zijn b.v. in de eerste serie waarnemingen bij

de 7de waarneming de tijd tot het stollingsbegin 46;
p, *q* en *r* 2; 10; 5.5;

de 20ste waarneming de tijd tot het stollingsbegin 20;
p, *q* en *r* 4; 17; 10.

Er blijken in deze verhoudingen groote individueele verschillen te bestaan.

HOOFDSTUK VI.

Opmerkingen.

Als bezwaar tegen de methode zou kunnen worden aangevoerd het groote aantal verrichtingen, dat met het bloed geschiedt.

Hiertegen kan in het midden worden gebracht, dat de omstandigheden, waaronder het bloed gebracht wordt, met groote nauwkeurigheid dezelfde gehouden kunnen worden; men heeft deze omstandigheden vrijwel in de hand, de benoodigde zoutoplossingen zijn in hun concentraties en hoeveelheden practisch zonder fouten toe te dienen.

Wel is mij gebleken, dat de wijze van menging van de calciumchloride-oplossing met het oxalaatplasma beteekenis heeft. In waarnemingen, verricht met het oxalaatplasma van het paard bleek het mij, dat niet alleen bij een onvoldoend mengen met het roerstaafje de kans groot is, dat slechts een deel van het plasma stolt, terwijl een ander deel vloeibaar blijft, maar ook, dat bij langzaam roeren met het staafje de uitvlokking van de fibrine trager geschiedt dan bij een sneller roeren van het staafje gedurende denzelfden tijd.

Ik heb er mij daarom op toegelegd met dezelfde snelheid steeds gedurende hetzelfde aantal seconden (45) te roeren, waarmee ik steeds bij denzelfden persoon dezelfde uitkomsten verkreeg.

Een apparaatje, aangebracht met het doel een constante menging der beide oplossingen te bewerkstelligen, zou de waarneming compliceeren, maar meen ik als overbodig te mogen beschouwen op grond van de gelijke resultaten, telkens bij denzelfden persoon verkregen.

Er is een bezwaar, dat zeer zeker onze aandacht verdient. Niet altijd blijft het calciumoxalaat, dat zich vormt na de menging van de calciumchloride-oplossing met het oxalaatplasma in oplossing; het komt voor, dat het calciumoxalaat in groote kristallen in het mengsel gevormd wordt en in de oplossing neerslaat. In de kromme is deze omstandigheid onmiddellijk zichtbaar, daar het horizontale gedeelte B hierdoor verloren gaat en in de plaats daarvan een onregelmatig dalende lijn optreedt, veroorzaakt door een helderder worden van de oplossingen tengevolge van het neerslaan der kristallen.

Weliswaar treedt daarna oogenschijnlijk ongerept de eigenlijke stollingskromme op, maar toch moet een dergelijke kristalvorming op het verloop der stolling invloed uitoefenen.

In de eerste plaats zal het aanrakingsoppervlak van het bloedplasma met het calciumoxalaat kleiner zijn, wanneer dit oxalaat in conglomeraten van kristallen neerslaat, dan wanneer dit calciumoxalaat in uiterst fijne deeltjes in oplossing gehouden wordt, daarmee zal dus de thromboplastische werking van het calciumoxalaat verkleind worden en een trager stollingsverloop moeten plaats vinden. Deze invloed van het calciumoxalaat is door Nolf [1]) experimenteel vastgesteld. Hij mengde in een reageerbuisje 0,05 ccM. 3 % natriumoxalaat en 0,05 ccM. 11,1 % calciumchloride, het calciumoxalaat wordt dan volkomen neergeslagen en zet zich op den bodem in den vorm van kristallen af, in de bovenstaande vloeistof bevindt zich nog calcium. Voegt hij bij

---

[1]) Nolf. Eine neue Theorie der Blutgerinnung, Ergebnisse der Inneren Medizin. Bd. 10 (1913).

deze vloeistof 2 ccM. plasma van een, met propepton vergiftigde hond, dan gebeurt er niets, het bloedplasma stolt niet.

Voegt hij evenwel in een ander buisje bij 2 ccM. van dat plasma eerst 0,05 ccM. 11,1 % calciumchloride en daarna 0,05 ccM. 3 % natriumoxalaat, dan wordt de vloeistof direct troebel door de vorming van het calciumoxalaat, dit slaat echter niet neer, maar wordt in colloidale oplossing gehouden.

Na verloop van enkele minuten troebelt zich de vloeistof sterker, ze stolt geheel. Waarom, zoo vraagt Nolf, blijft de vloeistof, in contact met de op den bodem liggende kristallen, vloeibaar en stolt het laatste mengsel? Eenvoudig, omdat in deze laatste colloidale pseudo-oplossing het oxalaat zich in ultra-microscopische deeltjes verspreid bevindt, zoodat zijn contact met het plasma enorm veel grooter is.

Ook in ons oxalaatplasma moet bij het neerslaan der oxalaatkristallen een verschil van invloed bestaan, zij het dan ook in veel mindere mate, dan in de proef van Nolf.

In de tweede plaats zullen bij den aanvang van de fibrineuitvlokking twee processen in elkaar loopen; aan den eenen kant zal het mengsel door het neerslaan van calciumoxalaat ophelderen, aan den anderen kant ontstaat een troebeling door de bloedstolling. Daardoor wordt aanvankelijk de stolling gemaskeerd, de dalende lijn gaat over in een kort horizontaal gedeelte, waarna de eigenlijke stollingskromme optreedt. Dit alles vindt plaats in zeer korten tijd, daar het neerslaan der kristallen zeer spoedig door de gevormde fibrine-gelei geremd wordt en ophoudt; maar toch is in een dergelijke kromme een onnauwkeurigheid in de waarneming aanwezig.

Dit neerslaan der oxalaatkristallen zag ik zoowel bij 23° C. als bij 15° C. Wel zal het van belang zijn zorg te dragen voor zuivere oplossingen van kaliumoxalaat en calciumchloride. Vooral de oplossing van 1 % kaliumoxalaat in 0,85 % natriumchloride verdient de aandacht. Er zijn meermalen in het keukenzout kleine sporen calcium aanwezig,

die met het kaliumoxalaat het onoplosbare calciumoxalaat vormen. Sporen calcium verraden zich dan ook in de bovengenoemde oplossing door een geringe troebeling; soms is deze troebeling eerst duidelijk na enkele uren staan. De aanwezigheid van deze reeds gevormde kristallen werkt het ontstaan van nieuwe kristallen in de hand en zal daarom voor het ontstaan van een neerslag bevorderlijk zijn.

Het verdient aanbeveling voor de waarnemingen alleen volkomen heldere oplossingen te gebruiken.

Volgens Marcel Bloch[1]) moet ook aan het calciumchloride bijzondere zorg besteed worden. Het calciumchloride uit den handel zou volgens hem niet geschikt zijn voor nauwkeurige titratie. Het calciumchloride is een zeer hygroscopisch zout; er bestaan vijf variëteiten van, vanaf het anhydride tot de variëteiten, die 1—6 moleculen water bevatten. Bovendien kan het onzuiver zijn en kalk bevatten. Bij de minste oververhitting in zijn bereiding heeft de reactie $CaCl_2 + H_2O = 2HCl + CaO$ plaats, die het hyperalkalisch maakt. Bloch raadt daarom de volgende bereiding aan:

Men gaat uit van een 20 % chemisch zuivere oplossing van HCl, neutraliseert dit door toevoeging in kleine hoeveelheden van het zuivere calciumcarbonaat van den handel. Daarna wordt gekookt om de overmaat HCl te verdrijven. Men laat afkoelen en titreert een deel met een oplossing van AzO^3Ag, zoodat 1 c.M.^{3} overeenkomt met één centigram $CaCl_2$. Het is dan gemakkelijk de oplossing te verdunnen tot de gewenschte concentratie. De aldus verkregen oplossing bevat geen enkele onzuiverheid dan calciumcarbonaat in zeer geringe hoeveelheid van de orde van 0,002 op 100.

In weerwil van mijn voorzorgen zag ik toch af en toe een neerslag optreden, zonder dat het mij mogelijk was, de juiste oorzaak hiervoor aan te wijzen.

---

[1]) M. Bloch. Coaqulabilite sanguine. Mesure clinique. Thése de Paris, 1914.

Bij gebruik van dezelfde oplossing verkreeg ik met het bloed van den eenen persoon een neerslag, terwijl bij een ander het gevormde calciumoxalaat geheel in suspensie bleef.

Bij het paard heb ik het neerslag niet zien optreden.

Ik ben geneigd hier te denken aan individueele verschillen.

Merkwaardigerwijze deed deze stoornis zich voor aan het eind van mijn reeks van proefnemingen, terwijl ik ze in het begin daarvan niet opmerkte.

Intusschen kan de vraag gesteld worden in hoeverre daardoor waarnemingen met citraatplasma te verkiezen zijn boven die met oxalaatplasma, omdat bij de stolling van het citraatplasma een storend neerslag niet optreedt; na de toevoeging van het calciumchloride vormt zich met het natriumcitraat een dubbelzout [1]), dat in oplossing blijft.

Het groote voordeel, dat deze methode heeft, is, dat ze volmaakt objectief is. Elke waarneming kan photographisch worden vastgelegd en kan door een ieder bestudeerd worden. Ze is vrij van elke subjectieve waarnemingsfout.

Juist deze subjectieve waarnemingsfout kan bij de gebruikelijke methoden om den stollingstijd te bepalen groot zijn. Uit mijne krommen blijkt, dat de bloedstolling niet een explosief karakter draagt met een scherp waarneembaar einde, maar dat aan een snel verloopend gedeelte een zeer geleidelijk begin voorafgaat en door een zeer geleidelijk einde gevolgd wordt.

Het is niet geoorloofd zonder meer uit het stollingsverloop in deze krommen te besluiten, dat de stolling van bloed in alle omstandigheden ditzelfde karakter zal dragen. Toch meen ik, waar ik bij beschouwing van het bloed op een horloge-schaaltje gedurende eenigen tijd aarzelde, of de verstijving voltooid was dan wel of spoedig de stolling totaal zou zijn, naar analogie van het karakter der stollings-

---

[1]) M. Bloch. Thése de Paris, 1914.

krommen, het als hoogstwaarschijnlijk te mogen aannemen, dat ook bij het bloed als zoodanig het eind van het verstijvingsproces geleidelijk zal zijn.

In de gebruikelijke methoden om den bloedstollingstijd te bepalen, tracht men eigenlijk alleen het eindtijdstip te bepalen.

In de krommen krijgt men een inzicht in de wijze, waarop het geheele stollingsproces verloopt. Niet alleen het begin of het einde, maar van oogenblik tot oogenblik wordt de verstijving vastgelegd en is zichtbaar in welke phase het stollingsproces gekomen is.

---

l 62

UT